CIRCULATE

UNIVERSITY OF HAWAII
LIBRARY
OCT 25 '49

EXPERIENTIA

EST EXPERIENTIA SCIENTIA PARACELSUS

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE
Bern Zürich Genève
Redactor: H. MISLIN, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10
SUISSE - SCHWEIZ - SVIZZERA - SWITZERLAND

Vol. V - Fasc. 9 15. IX. 1949 (Sept 15, 1949) Fr. 2.50

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

J. P. WIBAUT: Untersuchungen über den Einfluß von Temperatur und von Katalysatoren bei der Substitution am aromatischen Kern . . . 337
F. HAUROWITZ: The Internal Structure of Protein Molecules . . . 347

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

H. BIERI: Über konvexe Extremalkörper . . . 355
(Frl.) J. RÜLING und R. STEINMAURER: Nebelkammeraufnahmen von Mesonen kleiner Masse . . . 355
P. RONDONI, G. MAYR, and E. GALLICO: On Magnetic Behaviour of Some Carcinogenic Substances . . . 357
R. CIFERRI e F. BERTOSSI: Azione potenzializzante reciproca del 2,4-diclorofenossiacetato sodico, dell'*o*-isopropil-*N*-fenilcarbamato e del 2,4-dinitro-*o*-cresolato sodico . . . 358
H. BORNSCHEIN und F. KREJCI: Über die Frequenzabhängigkeit reversibler Änderungen der Cochlearpotentiale bei temporärer Anoxie . . . 359
O. SCHAUMANN: Über den Einfluß von Oxytocin und Vasopressin auf die Ausscheidung von Kalium und Natrium durch die Niere . . . 360
W. SCHULER: Über die Wirkung von Pyribenzamin und anderen Antihistaminika auf die durch Histaminverabreichung erzeugten Magenulzera . . . 361
A. STUDER: Zur Frage der Hemmung des Thiouracilkropfes der Ratte . . . 362
H. MOOSER: Die Mobilisation von *Musculomyces* durch das Virus der Ektromelie . . . 364
H. BIRKHÄUSER: Die Meerschweinchenpathogenität von Tuberkelbazillen, die aus spezifisch vorbehandelten Ratten stammen . . . 365
J. LEHMANN: On the Effect of Isomers of PAS (para-amino-salicylic acid) and Related Substances on the Tuberculostatic Effect of PAS . . . 365
E. H. REINAU: Zur CO_2-Resttheorie im Pflanzenbau (Disputanda) . . . 367
E. K. GABRIELSEN: Bemerkungen zur Mitteilung von E. H. REINAU: Zur CO_2-Resttheorie im Pflanzenbau (Disputanda) . . . 368

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Atomic Energy. By Karl K. Darrow (John Wiley & Sons, Inc., New York – Chapman & Hall, Ltd., London, 1948) (Ref. A. Stebler) . . . 369
Lehrbuch der physiologischen Chemie. Von Emil Abderhalden (Verlag Benno Schwabe & Co., Basel 1948) (Ref. K. Bernhard) . . . 369

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Studiorum progressus: O. HARNISCH: Die Erholungsatmung der Larven von *Chironomus* und *Eutanytarsus* und ihre ökologische Bedeutung . . . 369
Congrès . . . 372

EXPERIENTIA

L'EXPERIENTIA publiera:

1. des *articles originaux* sur les récentes recherches scientifiques écrits dans une des langues principales;
2. de *brèves communications;*
3. informera ses lecteurs des événements marquants de la vie scientifique, donnera des *comptes rendus concernant les récentes publications, les congrès et les assemblées.*

Die EXPERIENTIA stellt sich die Aufgabe:

1. durch *zusammenfassende Originalartikel* in einer der wissenschaftlichen Hauptsprachen von Autoren aus verschiedenen Ländern über Forschungsergebnisse berichten zu lassen, die im Vordergrund des Interesses stehen;
2. kurze *Mitteilungen* aufzunehmen;
3. durch Besprechung neuerschienener *Bücher*, durch Referate über *Kongresse* und *Versammlungen* sowie durch andere Mitteilungen über die bedeutendsten Ereignisse des naturwissenschaftlichen Lebens zu informieren.

EXPERIENTIA si propone di pubblicare:

1. *articoli originali riassuntivi*, in una delle principali lingue usate dalla scienza, ad opera di autori di diversi paesi, su risultati scientifici di grande interesse;
2. *brevi comunicazioni;*
3. *recensioni di nuovi libri, relazioni di congressi e riunioni*, come pure altre comunicazioni su importanti avvenimenti nel campo delle scienze naturali.

The aim of EXPERIENTIA is:

1. to publish comprehensive articles embodying the results of recent scientific research. These will be written in one of the principal scientific languages and contributed by authors in various countries;
2. to publish *brief reports;*
3. to give information about the most important events in natural science by means of *reviews of the latest books, reports on congresses and meetings*, as well as through other communications.

E X P E R.

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Prix du numéro fr. 2.50. Abonnement pour un an fr. 24.— pour la Suisse; pour l'étranger fr. 28.—. Ces prix s'entendent en francs suisses.
Adresser toute correspondance touchant la rédaction de l'EXPERIENTIA exclusivement à l'éditeur soussigné.
Dernier délai d'admission pour les manuscrits: 35 jours avant la parution, c'est-à-dire le 10 du mois pour le numéro du mois suivant
Les auteurs recevront gratuitement, s'ils le désirent, 50 tirés à par. de format 14,5 sur 21 cm, sans couverture. Pour le prix d'un nombre plus grand et pour la couverture s'adresser à l'éditeur. Les tirages à part doivent être commandés *avant* l'impression du périodique.
Prix pour les annonces: $^1/_1$ page fr. 200.—, $^1/_2$ page fr. 120.—, $^1/_4$ page fr. 70.—. Placements spéciaux: prix sur demande. Demandes à l'éditeur.
L'EXPERIENTIA est imprimée en Suisse.

Editions Birkhæuser S.A., Bâle 10 (Suisse), Elisabethenstrasse 15
Tél. 49800; adresse télégraphique: Edita Bâle

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Auslande durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. In Belgien, Luxemburg, Dänemark, Schweden, Norwegen, Finnland, Tschechoslowakei, Portugal und Marokko nehmen auch die Postämter Bestellungen entgegen.
Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 24.—, im Ausland sFr. 28.—; die Einzelnummer kostet Fr. 2.50.
Alle Zuschriften an die Redaktion sind ausschließlich an den Verlag zu richten. Redaktionsschluß 35 Tage vor Erscheinungstermin, d.h. am 10. des Monats für den folgenden Monat.
Die Autoren erhalten auf Wunsch 50 Gratisseparata im Format 14,5 ×21 cm, ohne Umschlag. Die Kosten für weitere Separata und für Umschläge sind beim Verlag zu erfragen. Separata sind *vor* dem Druck der Zeitschrift zu bestellen.
Insertionspreise: $^1/_1$ Seite Fr. 200.—, $^1/_2$ Seite Fr. 120.—, $^1/_4$ Seite Fr. 70.—; für Vorzugsseiten besondere Vereinbarung. Inseratenannahme durch den Verlag.
Die EXPERIENTIA wird in der Schweiz gedruckt.

Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstraße 15
Tel. 49800; Telegrammadresse: Edita Basel

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. Il prezzo del singolo fascicolo è di fr. 2.50. L'abbonamento annuo è di fr. 24.— per la Svizzera; all'estero fr. 28.—. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.
Tutti gli invii alla redazione di EXPERIENTIA vanno indirizzati esclusivamente alla sottoindicata casa editrice.
La redazione di ogni fascicolo si chiude 35 giorni prima del termine di pubblicazione, cioè al 10 del mese, per il mese seguente.
Gli autori ricevono, su desiderio, 50 estratti del formato 14,5 ×21 cm, senza copertina. Il prezzo degli estratti in più e della copertina viene indicato, su richiesta, dalla casa editrice. Gli estratti vanno ordinati *prima* della stampa della Rivista.
Prezzi per annunci: $^1/_1$ pag. fr. 200.—, $^1/_2$ pag. fr. 120.—, $^1/_4$ pag. fr. 70.—; per pagine speciali, accordi da stabilire. Gli annunci sono da inviare alla casa editrice.
EXPERIENTIA si stampa in Isvizzera.

Casa editrice Birkhæuser S.A., Basilea 10 (Svizzera), Elisabethenstr. 15
Tel. 49800; Indirizzo telegrammi: Edita Basilea

EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price per number is fr. 2.50, by annual subscription by inland-mail fr. 24.—; other countries fr. 28.—. Prices in Swiss currency.
All communications to the editors should be addressed to the publishers. All manuscripts for publication in a given number must be in the hands of the publishers on the 10th of the preceding month.
The authors receive, on request, 50 reprints 14,5 ×21 cm without cover free of charge. For the prices of additional reprints and covers, inquiries should be addressed to the publishers. Reprints must be ordered *before* the number is printed.
Prices for advertising: $^1/_1$ page fr. 200.—, $^1/_2$ page fr. 120.—, $^1/_4$ page fr. 70.—. Advertisements should be sent to the publishers.

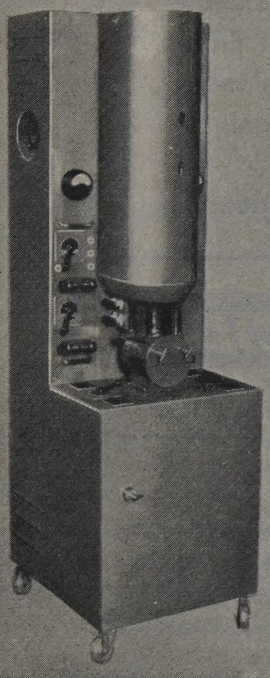
Published by Birkhäuser Ltd., Basle 10 (Switzerland), Elisabethenstr. 15
Phone 49800; Telegrams: Edita Basle

Printed in Switzerland / E. Birkhäuser & Cie., Basel

Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – Experientia V/9

Ciba AG., Basel
Trüb, Täuber & Co. AG., Zürich
Salvis AG., Luzern
Steiner & Co., Basel
Kirchner AG., Bern
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart
Birkhäuser AG., Basel
E. Mettler, Zürich
Cilag AG., Schaffhausen
N. Zivy & Cie., Basel
Sauerländer & Co., Aarau

Universal-Kathodenstrahloszillograph



Der Oszillograph eignet sich besonders für Stossprüfanlagen und Untersuchungen von Abschaltvorgängen usw.

Seine Hauptdaten sind folgende:
Eingebaute Hochspannungsanlage für 15, 25, 35 und 45 kV.

Empfindlichkeit in V/mm:
für die Zeitachse:
0,55 × Anodenspannung in kV;

für die Meßspannung:
0,44 × Anodenspannung in kV.

Strichschärfe: 0,03—0,3 mm.
log. Zeitablenkung 1 µs—1000 µs
lin. Zeitablenkung 1000 µs—1 s
einmalig und wiederholt

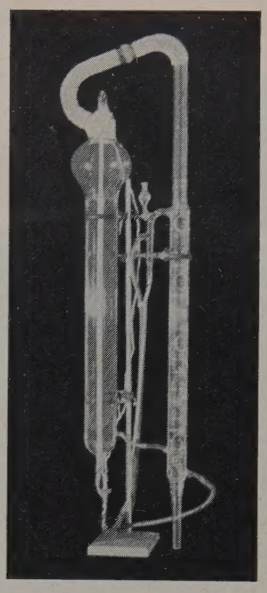
Einschwingzeit: 0,2 µs
Registrierformat: 6 × 6 cm
Registriervermögen: 10—15 Perioden pro mm.

Trüb, Täuber & Co. AG.

Fabrik elektrischer Meßinstrumente und wissenschaftlicher Apparate, Zürich

---

Leistung:
2 und 4 1/2 Liter/Std.



Elektrische Wasser-Destillierapparate

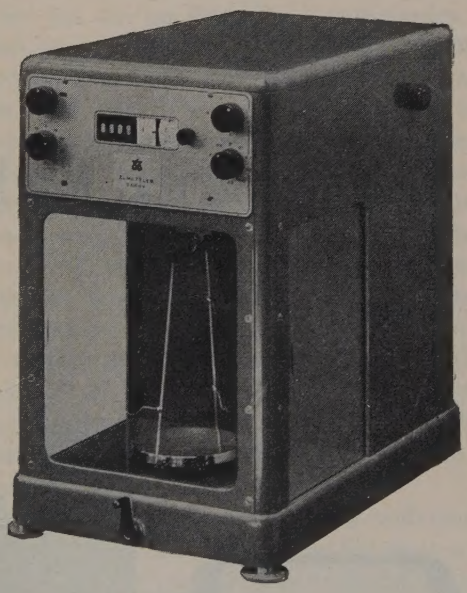
ganz aus Glas, mit patentiertem Quarzheizstab

CARL KIRCHNER AG., BERN

Telephon (031) 2 45 97 Freie Straße 12

Elektrische **Trocken- und Sterilisierschränke**
Bakterienbrutschränke
Kleintiegel- und Muffelöfen
Sand- und Wasserbäder
Heizkalotten
Wasserdestillierapparate
Heizplatten und Heiztrichter
Spezialapparate-Konstruktionen aller Art für Laboratorien

Comptoir Halle I, Stand 69



METTLER Analysenwaagen

Genau
Schnell
Sicher
Einfach

Für sämtliche analytischen und halbmikro-analytischen Arbeiten

Fabrik für Analysenwaagen
E. METTLER ZÜRICH
Pelikanstr. 19, Tel. (051) 25 25 70

Lungentuberkulose
Bronchialtuberkulose
Kavernen und Empyeme
Nierentuberkulose
Darmtuberkulose
Meningitis tbc
Miliartuberkulose

PAS-CILAG

p-Aminosalicylsäure

Packungen:

500 und 1000 Dragées zu 0,3 g
250 und 1000 Tabletten zu 0,5 g
5 und 25 Ampullen zu 2 cc/20%
5 und 25 Ampullen zu 10 cc/20%

CILAG AKTIENGESELLSCHAFT SCHAFFHAUSEN

CILAG

Soeben erschienen:

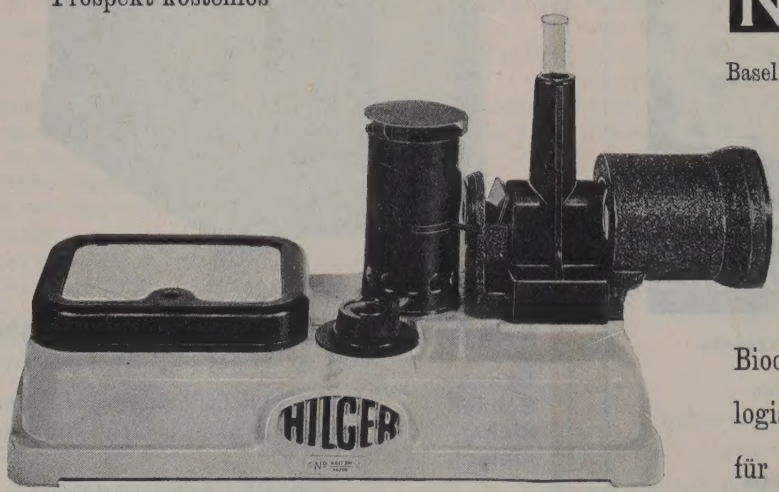
von Delory
90 Seiten 21 Abbildungen

Photoelectrical Methods in Clinical Biochemistry

Prospekt kostenlos

N. ZIVY & Cie

Basel 9, Spalenring 164, Tel. (061) 2 59 90



HILGER

Biochem. Absorptiometer für biologische und klinische Analysen, für Reagensröhren und Küvetten

INS

EXPERIENTIA

Vol. V - Fasc. 9 Pag. 337–372 15. IX. 1949

Untersuchungen über den Einfluß von Temperatur und von Katalysatoren bei der Substitution am aromatischen Kern

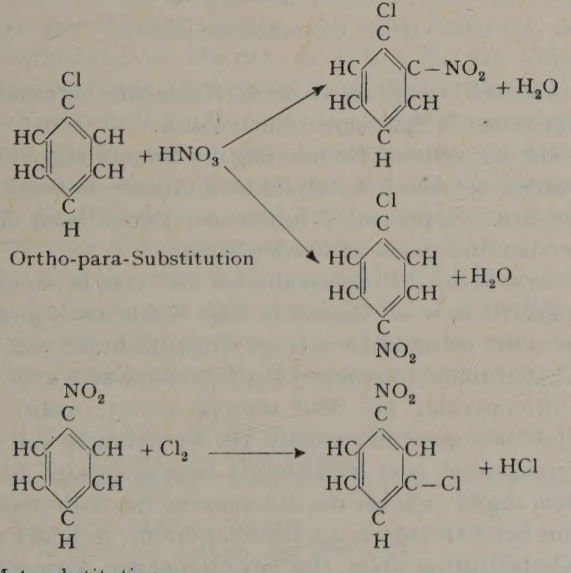
Von J. P. WIBAUT[1], Amsterdam[2]

1. *Einleitung*

In der zweiten Hälfte des vergangenen Jahrhunderts, als die Chemie der aromatischen Verbindungen einen schnellen Aufschwung erlebte, dessen theoretische Grundlage das von KEKULÉ aufgestellte Formelbild für Benzol war, hat man auf Grund eines sehr ausgedehnten experimentellen Materials Regeln festgestellt, die für die Substitutionsreaktionen am Benzolkern gelten.

Bei der Einführung einer zweiten Gruppe in ein monosubstituiertes Benzol gibt es zwei Möglichkeiten: Die zweite Gruppe tritt entweder im wesentlichen in die Ortho- und Parastellungen oder hauptsächlich in die Metastellung ein. Welcher dieser beiden Fälle vorkommt, ist in erster Linie von der Art des bereits anwesenden Substituenten abhängig.

Bei der Halogenierung ebenso wie bei der Nitrierung oder der Sulfurierung des Chlorbenzols erfolgt Ortho-para-Substitution; demgegenüber tritt der zweite Substituent an die Metastellung bei der Halogenierung, der Nitrierung oder der Sulfurierung des Nitrobenzols:



Man unterscheidet deshalb ortho-para-dirigierende Substituenten, wie die Halogene, OH, NH_2, CH_3, die einen zweiten Substituenten nach para-ortho dirigieren, und metadirigierende Substituenten, COOH, $-SO_3H$, $-CN$, NO_2, die eine zweite Gruppe nach der Metastellung lenken.

Während der ersten Jahrzehnte des zwanzigsten Jahrhunderts ist der Inhalt dieser empirischen Regel erweitert und ihre Gültigkeit durch die quantitativen Untersuchungen von HOLLEMAN und seinen Schülern bestätigt worden. Auch englische Forscher haben auf diesem Gebiete vieles geleistet, vor allem INGOLD und seine Mitarbeiter. Entsprechend der von HOLLEMAN aufgestellten Regel der Erhaltung des Substitutionstypus ist das Auftreten von Ortho-, Para- oder Metasubstitution ausschließlich abhängig von der Art des im Benzolkern anwesenden Substituenten und nicht von der Natur des einzuführenden Substituenten; außerdem konnte HOLLEMAN feststellen, daß der Substitutionstypus nicht von der Reaktionstemperatur oder von Milieueinflüssen beeinflußt wird, wenn auch durch diese Faktoren wohl das gegenseitige Verhältnis der Ortho-para-Isomeren bei der Ortho-para-Substitution geändert werden kann.

Es erübrigt sich, hier auszuführen, daß diese Regel von großer praktischer Bedeutung für präparative Untersuchungen ist, zumal auch bei der Einführung eines dritten Substituenten in ein disubstituiertes Benzol C_6H_4AB die Substituenten A und B eine para-ortho-dirigierende oder eine metadirigierende Wirkung ausüben, wie HOLLEMAN aus umfangreichem experimentellem Material schließen konnte.

Obwohl es nicht gelungen ist, eine vollkommen befriedigende theoretische Erklärung für diese empirisch ermittelten Orientierungsregeln zu finden, billigte man diesen dennoch allgemeine Gültigkeit zu, weil vor 1933 keine Beobachtungen bekanntgeworden waren, die diesen Regeln nicht entsprachen.

Bis zu diesem Zeitpunkt wurden Substitutionsreaktionen am Benzolkern nur in einem engen Temperaturbereich untersucht, und zwar von 0^0 an (oder von einer nur um ein Geringes tieferen Temperatur an) bis zu 100–150^0, oder in einzelnen Fällen (Sulfurierungen) bis zu etwa 200^0. Aus dieser Übersicht wird hervor-

[1] Bearbeitet nach einem Vortrag, gehalten für die Basler Chemische Gesellschaft und für die Zürcher Chemische Gesellschaft im Mai 1946.

[2] Laboratorium für organische Chemie der städtischen Universität Amsterdam.

gehen, daß diese Substitutionsreaktionen bei bedeutend höheren Temperaturen einen ganz unerwarteten Verlauf nehmen können. Zum erstenmal wurde derartiges bei präparativen Arbeiten in der Gruppe des Pyridins beobachtet.

2. *Die Bromierung des Pyridins*

Zur Bereitung bromierter Pyridine stand die Methode von HOFMANN zur Verfügung, bei der das salzsaure Salz der Base mit Brom im Einschmelzrohr auf 200° erhitzt wird, wobei ein Gemisch von 3-Brompyridin und 3,5-Dibrompyridin entsteht.

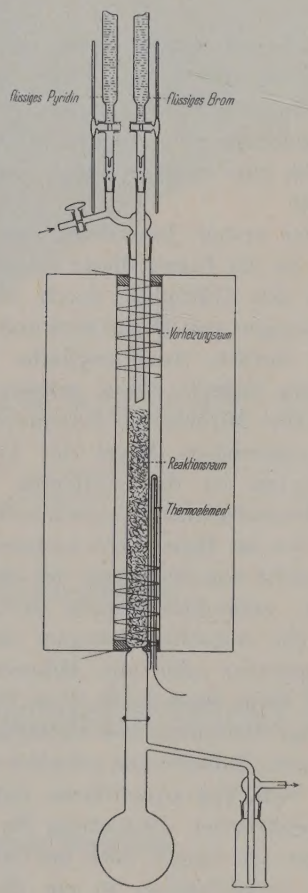


Abb. 1.

In Zusammenarbeit mit DEN HERTOG[1] wurde eine praktischere Methode für die Herstellung dieser Brompyridine durch Bromierung des Pyridins in der Gasphase bei Temperaturen oberhalb 250° entwickelt. Die Apparatur ist so eingerichtet, daß die Brom- und Pyridindämpfe einzeln erhitzt werden und sich nachher erst im Reaktionsrohr, wo die erwünschte Temperatur herrscht, mischen.

Bei 300° wurde in einem Reaktionsrohr, das mit Bimsstein oder Kokosnußkohle gefüllt war, das 3-Brompyridin neben dem 3,5-Dibrompyridin in erheblicher Ausbeute erhalten.

[1] H. J. DEN HERTOG und J. P. WIBAUT, Rec. Trav. chim. *51*, 381, 940 (1932); vgl. Rec. Trav. chim. *64*, 229 (1945).

Eine Beobachtung von DEN HERTOG und OVERHOFF[1] über die Bildung des 2-Nitropyridins durch direkte Nitrierung des Pyridinsulfats bei etwa 400°, veranlaßte uns die Bromierung des Pyridins in der Dampfphase bei hoher Temperatur zu studieren. Es stellte sich heraus, daß bei dieser Bromierung des Pyridins in der Dampfphase bei 500° ein Gemisch von 2-Brompyridin und 2,6-Dibrompyridin in sehr guter Ausbeute erhalten wird. Dieses Ergebnis war sehr überraschend, einerseits, weil bei dieser hohen Temperatur nur in sehr geringem Maße Zersetzung der organischen Stoffe stattfindet, andererseits, weil bei der Bromierung des Pyridindampfes der Substitutionstypus anscheinend von der Temperatur bedingt wird. Bei 300° treten die Bromatome überwiegend an β-Stellungen, bei 500° jedoch an α-Stellungen ein, indem bei etwa 400° β- und α-Substitution stattfindet.

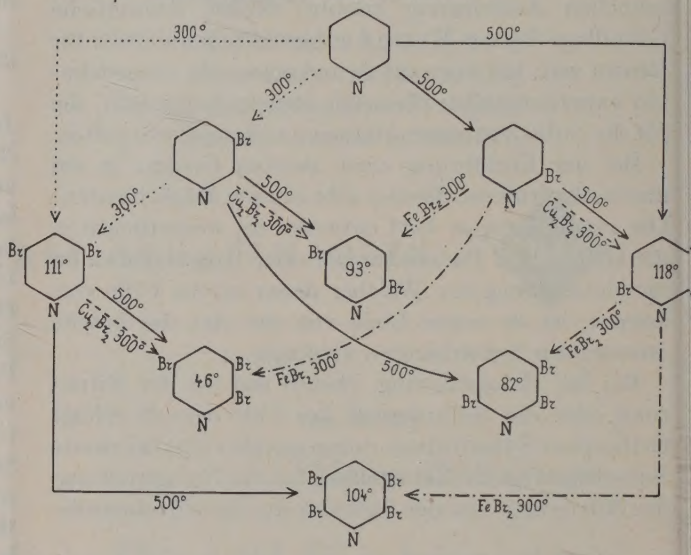


Abb. 2. Bromierung von Pyridin.

Die Abb. 1 zeigt die zu diesen Versuchen verwendete Apparatur in ihrer einfachsten Form.

Bei der weiteren Bromierung der Monobrompyridine wurden spezifisch katalytische Einflüsse beobachtet, die zwar experimentell feststehen, jedoch noch nicht verständlich gemacht werden können.

So wird das 2-Brompyridin bei 300° vom Brom nicht angegriffen, wenn Bimsstein oder Kohle als Kontaktsubstanz verwendet wird; bei einem Kontakt von mit Kupferbromid imprägniertem Bimsstein wird aber das 2-Brompyridin bei 300° weiterbromiert, wobei das 2,6-Dibrompyridin entsteht. Bei Verwendung von mit Ferrobromid oder Zinkbromid imprägniertem Bimsstein ergibt sich bei der Bromierung des 2-Brompyridins bei 300° jedoch 2,5-Dibrompyridin; es findet also β-Substitution statt. Im obenstehenden Formelbild sind diese gesamten Reaktionen zusammengefaßt worden.

[1] H. J. DEN HERTOG und J. OVERHOFF, Rec. Trav. chim. *49*, 552 (1930).

Die bromierten Pyridine sind für viele präparative Zwecke verwendbar. Die Bromatome können unter geeigneten Bedingungen von NH_2, $-CN$, $-OH$ oder $-NR_2$ oder von Oxyalkyl[1] ersetzt werden. Die an der α-Stellung[2] ebenso wie an der β-Stellung[3] bromierten Pyridine reagieren unter gewissen Bedingungen mit Magnesium, wobei Verbindungen entstehen, die sich in verschiedenen Reaktionen wie Pyridyl/Magnesium-Verbindungen verhalten und die für synthetische Zwecke verwendbar sind. Unsere Methode der Bromierung in der Gasphase wurde von BURSTALL in der Gruppe der Dipyridyle angewandt, bei der ebenfalls je nach der Temperatur β- oder α-Substitution vor sich geht; die entstandenen Bromderivate fanden für synthetische Zwecke Verwendung[4].

Auch bei der Chlorierung des Pyridins in der Dampfphase wird der Substitutionstypus von der Reaktionstemperatur bedingt, obwohl der Temperaturbereich, in dem man arbeiten kann, enger ist als bei der Bromierung: im Bereich von 270–400° entsteht ein Gemisch von 2-Chlorpyridin und 2,6-Dichlorpyridin, während bei 220° Substitution an 3 und 5 stattfindet[5].

Bemerkenswert ist, daß bei der Bromierung des Chinolins in der Dampfphase am Bimssteinkontakt ausschließlich Substitution in der Pyridinhälfte des Moleküls vor sich geht; auch hier ist der Substitutionstyp von der Temperatur abhängig, weil bei 450–500° das 2-Bromchinolin gebildet wird, und bei 300° das 3-Bromchinolin[6].

3. *Die Substitution in Monohalogenbenzolen bei hoher Temperatur*[7]

Es lag nunmehr nahe, zu untersuchen, ob auch bei der Substitution am Benzolkern die Temperatur einen derartigen Einfluß ausübt, daß eine Änderung des Substitutionstyps eintritt, so daß z. B. das Chlorbenzol bei hoher Temperatur an die Metastellung oder das Nitrobenzol an die Ortho-para-Stellungen substituiert werden würde. Zur Untersuchung bei hoher Temperatur eignet sich am meisten die Chlorierung oder die Bromierung, weil bei der Nitrierung durch oxydativen Abbau Nebenprodukte entstehen.

Bei dem Versuch, das Nitrobenzol bei hoher Temperatur zu bromieren, stellt es sich heraus, daß die Nitrogruppe von einem Bromatom ausgetauscht wird. Aus diesem Grunde haben wir für unsere Untersuchung die Einführung eines Chlor- oder Bromatoms in das Monohalogenbenzol gewählt.

Bei der Chlorierung des Chlorbenzols in der Gasphase im Temperaturbereich von 500–600° unter Anwendung von reinem Bimsstein als Kontaktsubstanz stellte es sich heraus, daß Metasubstitution vor sich ging, weil das entstandene Gemisch der Dichlorbenzole zu 50–60% das Metaisomer enthält. Bekanntlich dirigiert bei Temperaturen unter 200° das im Chlorbenzol sitzende Chloratom den zweiten Substituenten fast ausschließlich an Ortho-para-Stellungen.

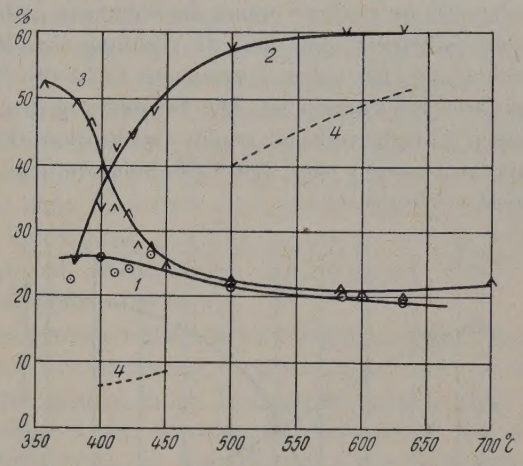


Abb. 3. Nichtkatalysierte Bromierung von Brombenzol in der Gasphase.
-⊖-⊖- % ortho ⋁ ⋁ % meta ⋀ ⋀ % para
------ Gesamtausbeute an Dibrombenzolen, auf Brom berechnet

Weil sich die Chlorierung bei hoher Temperatur wegen ihres heftigem Verlauf wenig zu einer genauen Untersuchung eignet, studierten wir die Bromierung des gasförmigen Brombenzols im Temperaturbereich von 200–650°. Bei diesen Versuchen wird das Brombenzol in der Dampfphase auf die erwünschte Temperatur vorgeheizt, und dann im auf konstanter Temperatur erhaltenen Reaktionsraum mit dem ebenfalls vorgeheizten Bromdampf gemischt.

Beide Gase werden mit konstanter Strömungsgeschwindigkeit in einem Molekularverhältnis C_6H_5Br: Br_2=1:0,5 durch den Reaktionsraum geführt. Durch das Übermaß des Brombenzols kann die Bildung von Tribrombenzolen zwar zurückgedrängt, jedoch nicht ganz verhindert werden. Aus dem Reaktionsprodukt wird das Gemisch der Dibrombenzole mittels sorgfältiger Destillation abgetrennt und das Mengenverhältnis ortho:meta:para ermittelt.

Aus den Kurven 1, 2 und 3 der Abb. 3 ist der Prozentsatz dieser Isomeren zu erkennen.

Bei diesen Versuchen war das Reaktionsrohr mit einer indifferenten, von Eisenverbindungen befreiten Kontaktsubstanz (Bimsstein oder künstlicher Graphit) gefüllt.

Die obenerwähnten Kurven haben einen sehr bemerkenswerten Verlauf. Unterhalb 350° erfolgt praktisch keine Reaktion; bei 380° bilden sich überwiegend

[1] H. J. DEN HERTOG und J. P. WIBAUT, Rec. Trav. chim. *55*, 122 (1935); H. J. DEN HERTOG, *64*, 85 (1945).

[2] J. OVERHOFF und W. PROOST, Rec. Trav. chim. *57*, 179 (1938); W. PROOST und J. P. WIBAUT, ib. *59*, 971 (1940).

[3] Noch nicht publizierte Versuche.

[4] F. H. BURSTALL, J. Chem. Soc. 1663 (1938).

[5] J. P. WIBAUT und J. R. NICOLAI, Rec. Trav. chim. *58*, 709 (1939).

[6] H. E. JANSEN und J. P. WIBAUT, Rec. Trav. chim. *56*, 694, 709 (1937).

[7] J. P. WIBAUT, L. M. F. VAN DE LANDE und G. WALLAGH, Rec. Trav. chim. *52*, 794 (1933); *56*, 65 (1937). – M. VAN LOON und J. P. WIBAUT, ib. *56*, 815 (1937).

Para- und Orthodibrombenzol (Ortho-para-Substitution). Im Temperaturbereich von 400–450° nimmt die Menge des Paraisomeren bei steigender Temperatur rasch ab, die Menge des Metaisomeren nimmt schnell zu, während sich die Menge des Orthodibrombenzols nicht viel ändert. Im Temperaturbereich von 450–700° zeigt sich eine geringe, gleichmäßig verlaufende Änderung im Mengenverhältnis der Isomeren. Die gestrichelte Kurve 4 in der Abb. 3 bezeichnet die auf Brom berechnete Gesamtausbeute der Dibrombenzole.

Wir haben festgestellt, daß sich die isomeren Dibrombenzole unter den Versuchsbedingungen nicht ineinander umlagern und daß die Bildung des Metadibrombenzols bei hoher Temperatur nicht die Folge sekundärer Reaktionen ist. Die Bromierung des gasförmigen Chlorbenzols an einem Graphitkontakt im Temperaturbereich von 375–475° läßt ähnliche Ergebnisse erkennen.

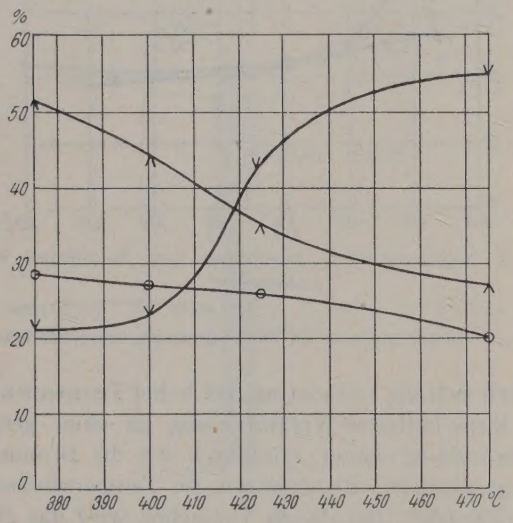


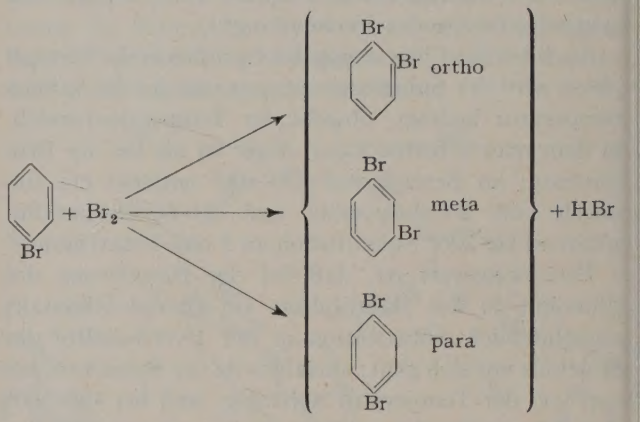
Abb. 4. Nichtkatalysierte Bromierung von Chlorbenzol in der Gasphase.
–⊖–⊖– % ortho ⩒⩒ % meta ⩓⩓ % para

Auch die Bromierung des gasförmigen Fluorbenzols an einem Graphitkontakt zeigt grundsätzlich denselben Verlauf, weil die Menge des Parabromfluorbenzols im Temperaturbereich von 400–500° rasch abnimmt und sich zwischen 500 und 600° nicht mehr viel ändert. (Die vollständige thermische Analyse des Gemisches der Isomeren läßt sich in diesem Falle nicht durchführen.)

4. *Die theoretische Behandlung des Temperatureinflusses*

Nach der klassischen Auffassung wird der Substitutionstypus von der Art des am Benzolkern sitzenden Substituenten bestimmt. Bleibt man bei dieser Auffassung, dann führen unsere Versuche zu der Schlußfolgerung, daß das Halogenatom in einem Halogenbenzol bei Temperaturen unter etwa 400° nach der Ortho-para-, jedoch bei Temperaturen oberhalb 450° nach der Metastellung dirigiert.

Die Regel Hollemans, nach der sich der Substitutionstypus infolge der Reaktionstemperatur nicht ändert, stellt sich nur bei Temperaturen unter 400° als allgemein gültig heraus. Es ergibt sich daher die Frage, weshalb sich der Erhöhung der Reaktionstemperaturen zufolge die dirigierende Kraft des Halogenatoms in C_6H_5X so durchgreifend ändert und weshalb diese Änderung sich innerhalb eines kleinen Temperaturbereiches vollzieht. Um die Bedeutung dieser Fragestellung beurteilen zu können, muß man den Einfluß der Temperatur auf die Substitution im monosubstituierten Benzol näher betrachten. Es handelt sich hier um die simultanen Reaktionen:



Wenn die verschiedenen Isomeren sich unter den Versuchsbedingungen nicht ineinander umlagern, so wird das Mengenverhältnis der Isomeren im Endprodukt: $C_{ortho}:C_{meta}:C_{para}$ von dem Verhältnis der sich auf die Substitutionsgeschwindigkeit an einer Ortho- bzw. an einer Meta- oder Parastellung beziehenden partiellen Geschwindigkeitskonstanten $k_{ortho}:k_{meta}:k_{para}$ bedingt. Es gilt hierfür $k_o + k_m + k_p = k$, wenn k die Geschwindigkeitskonstante der Bruttoreaktion darstellt. Aus den auf experimentellem Wege ermittelten Werten des Mengenverhältnisses der Isomeren im Endprodukt kann man also unter Berücksichtigung der Tatsache, daß für die Einführung des zweiten Substituenten zwei Ortho- und zwei Metastellungen, somit eine Parastellung zur Verfügung stehen, das Verhältnis $k_o:k_m:k_p$ berechnen.

Scheffer[1] hat aus einer von ihm in den Jahren 1911 bis 1913 entwickelten allgemeinen Theorie der Reaktionsgeschwindigkeit die folgenden Formeln für die simultanen Reaktionen des obenerwähnten Typus ermittelt

$$\ln \frac{k_o}{k_m} = \frac{\varepsilon_m - \varepsilon_o}{RT} - \frac{\eta_m - \eta_o}{R}, \qquad (1)$$

in denen ε_o und ε_m die Aktivierungsenergien der Substitution an der Ortho- bzw. an der Metastellung dar-

[1] F. E. C. Scheffer, Proc. Akad. van Wetenschappen Amsterdam *15*, 1118 (1913). – F. E. C. Scheffer und W. F. Brandsma, Rec. Trav. chim. *45*, 522 (1926).

stellen und η_o und η_m die entsprechenden Entropiegrößen. SCHEFFER erprobte seine Formeln an den von HOLLEMAN bei der Einführung einer Nitrogruppe in C_6H_5A erzielten quantitativen Daten; diese Reaktionen waren in einem verhältnismäßig engen Temperaturbereich studiert worden, nämlich im Bereich von -30^0 bis $+30^0$, oder in einzelnen Fällen auch bis $+60^0$. Es stellte sich heraus, daß das Verhältnis der bei diesen Reaktionen gebildeten Isomeren von den folgenden vereinfachten Formeln dargestellt werden kann

$$\log \frac{k_o}{k_m} = \frac{\varepsilon_m - \varepsilon_o}{RT} \quad (2); \qquad \log \frac{k_p}{k_o} = \frac{\varepsilon_o - \varepsilon_p}{RT} \quad (3)$$

bzw., daß der Entropieterm in bezug auf den Energieterm vernachlässigt werden darf. Das Mengenverhältnis der Isomeren wird also von dem Unterschied der Aktivierungsenergien bei der Substitution an den Ortho-, Meta- oder Parastellungen bedingt; der Einfluß von sterischen Faktoren kann in erster Annäherung vernachlässigt werden.

Es ist klar, daß die Kurven 1, 2 und 3 oder die Kurven in der Abb. 4 nicht von den Formeln (2) und (3) dargestellt werden können und ebensowenig von einer Formel des Typus (1), in der ein Energie- und ein Entropieterm vorkommen.

5. *Der Einfluß von Katalysatoren*

Einfachere Ergebnisse werden erzielt, wenn bei der Bromierung der Halogenbenzole in der Gasphase Ferribromid als Katalysator angewendet wird. Die Reaktion setzt bei bedeutend tieferer Temperatur als bei der nichtkatalytischen Bromierung ein. Die Änderung im Mengenverhältnis der Isomeren kann im Temperaturbereich von 200–450° von SCHEFFERS Formeln (2) und (3) ausgedrückt werden. Die in der Abb. 5 als berechnet bezeichneten Werte sind durch die Gleichungen

$$\log \frac{k_o}{k_m} = \frac{2036}{RT} \qquad \text{und} \qquad \ln \frac{k_p}{k_m} = \frac{2890}{RT}$$

ermittelt worden, wobei die Unterschiede der Aktivierungsenergien in Grammkalorien pro Molekül ausgedrückt sind.

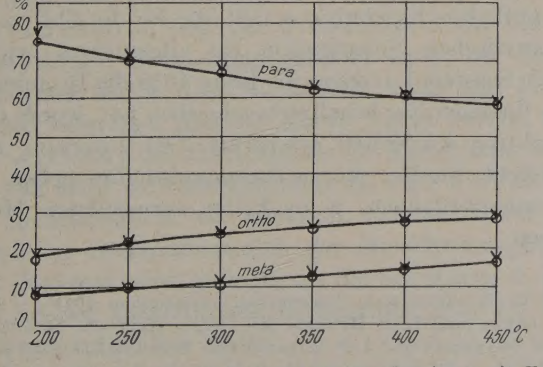


Abb. 5. Bromierung von Brombenzol in der Gasphase mit Ferribromid als Katalysator.
⊖ beobachtete Zahlen; V berechnete Zahlen

Die Bromierung des Chlorbenzols und des Fluorbenzols im Temperaturbereich von 300 bis 450° an einem Ferribromidkontakt zeigt einen der Bromierung des Brombenzols ähnlichen Verlauf.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Formeln SCHEFFERS in einem Temperaturbereich von etwa 250° ihre Gültigkeit behalten und daß bei der katalytischen Bromierung des Brombenzols (oder des Chlorbenzols) der Ortho-para-Substitutionstypus bis zu 450° erhalten bleibt.

Aus dem Vergleich der Kurven der katalytischen Bromierung mit denen der nichtkatalytischen Bromierung ergibt sich, daß im Temperaturbereich von 420–450° an einem Ferrihalogenidkontakt Ortho-para-Substitution, an einem indifferenten Kontaktstoff, wie Bimsstein oder Graphit, dagegen Metasubstitution vor sich geht. Die katalytische Bromierung kann nicht über 450° durchgeführt werden, weil dann das Ferribromid merklich sublimiert und die experimentellen Bedingungen infolgedessen nicht mehr streng definierbar sind.

Bei den von uns studierten Halogenierungen handelt es sich um heterogene Gasreaktionen; viele Beobachtungen deuten darauf hin, daß im Gebiete unter 400° vorwiegend die absorbierten Moleküle in der Oberflächenschicht des Kontaktstoffes eine Reaktion miteinander eingehen, während im Bereich von 450–650° die Reaktion der freien Moleküle in der Gasphase hervortritt. Auf diese Tatsache wurde von SPEEKMAN[1] hingewiesen, der ebenfalls die Annahme machte, daß oberhalb 450° eine dirigierende Wirkung des am Benzolkern sitzenden Halogenatoms nicht zur Geltung kommt, d. h. daß die Unterschiede der Aktivierungsenergien keine Rolle mehr spielen. Wäre für jedes Wasserstoffatom eines Brombenzolmoleküls die Wahrscheinlichkeit, von Brom substituiert zu werden, gleich groß, dann würde das Gemisch des Dibrombenzols zu 40% ortho-, zu 40% meta- und zu 20% para- bestehen.

Die Annahme liegt jedoch sehr nahe, daß infolge einer sterischen Hinderung die Substitution an den Orthostellungen weniger wahrscheinlich ist. In diesem Falle muß sich aber auch das Orthoisomer in geringerem Maße bilden, als es der statistischen Verteilung entspricht.

Hiervon unabhängig müssen sich über 450° die Meta- und die Paraisomeren im Verhältnis 2:1 bilden. Bis zu 500° steht diese Annahme auch mit den Beobachtungen in ziemlich guter Übereinstimmung (Tabelle I); bei höheren Temperaturen bilden sich jedoch mehr Metaisomeren, als diesem Verhältnis entspricht.

Es muß in Betracht gezogen werden, daß bei diesen hohen Temperaturen die Genauigkeit der Versuche infolge der Bildung von Nebenprodukten beeinträchtigt wird.

[1] B. W. SPEEKMAN, Diss. (Amsterdam 1941).

Tabelle I
Die Bromierung des gasförmigen Brombenzols am Bimsstein oder am Graphit

Temperatur ° C	Die Zusammensetzung des Gemisches der Dibrombenzole		
	ortho	meta	para
380	23	25	52
400	26	33	40
420	25	43	32
440	26	47	27
450	21	53	25
500	21	56	23
585	20	59	22
630	19	60	21

Weil die Aktivierungsenergie für die Wandreaktion einen anderen Wert als für die Gasreaktion haben wird, ist es verständlich, daß der Temperaturbereich, in dem das Mengenverhältnis der Isomeren von den Unterschieden der Aktivierungsenergien bedingt wird, und der Bereich, in dem diese Unterschiede keine Rolle mehr spielen, von einem ziemlich engen Übergangsbereich getrennt werden. Der bei der katalytischen Bromierung noch bei 450° existierende überwiegende Einfluß der erstgenannten Reaktionsart ergibt sich selbstverständlich aus dem schnelleren Verlauf der Reaktion an einer Eisenbromidoberfläche als an einer indifferenten Oberfläche, so daß im ersteren Fall die Wandreaktion bis zu einem höheren Temperaturbereich über die Gasreaktion vorherrschen wird.

Die am Anfang unter Abschnitt 4 erörterte Frage, weshalb infolge der Erhöhung der Reaktionstemperatur eine Umwandlung des Substitutionstypus vor sich geht, nämlich von Ortho-para-Substitution nach Metasubstitution, kann jetzt folgendermaßen beantwortet werden:

Im Temperaturbereich unterhalb 400° ist das Mengenverhältnis der Isomeren von dem Unterschied der Aktivierungsenergien bei der Substitution an der Ortho-, Meta- oder Parastellung bedingt. Dieser Unterschied der Aktivierungsenergien drückt das dirigierende Vermögen des am Benzolkern sitzenden Substituenten aus.

Oberhalb einer bestimmten Temperatur spielt jedoch der Unterschied der Aktivierungsenergien keine Rolle, und es kann da von einer dirigierenden Wirkung gar nicht mehr die Rede sein. In diesem Temperaturbereich wird das Mengenverhältnis der Isomeren in erster Annäherung von einer statistischen Verteilung der am Benzolkern verfügbaren Stellen bestimmt, wobei aber die Orthostellen einer sterischen Hinderung unterliegen können. Diese Betrachtungen haben nur Gültigkeit, wenn sich die Isomeren unter den vorherrschenden experimentellen Umständen nicht ineinander umlagern. Bei der nichtkatalytischen Bromierung wie auch bei der oben beschriebenen katalytischen Bromierung sind diese Bedingungen erfüllt worden.

Bei der Bromierung des Naphthalins werden wir einen Fall kennenlernen, in dem die isomeren Substitutionsprodukte sich ineinander umwandeln können. Ehe wir aber zur Besprechung der Bromierung des Naphthalins übergehen, wollen wir noch auf die Bromierung des Phenols hinweisen, bei welcher der Substitutionstypus innerhalb eines größeren Temperaturbereiches erhalten bleibt. Es geht hier Ortho-para-Substitution in einem Temperaturbereich von 40–500° vor sich; die Bildung des Metabromphenols konnte nicht einwandfrei nachgewiesen werden[1].

Tabelle II
Die Bromierung des Phenols

Temperatur ° C	Gesamtausbeute d. Monobromphenols, auf Brom ber.	Zusammensetzung des Gemisches der Monobromphenole	
		ortho	para
153 Flüssigkeitsphase	90%	21	79
247 | Gasphase am	68%	31	67
365 | Glaswollekontakt	42%	48	51
503	30%	69	30

Die Zahlen können nicht mit einer Formel von SCHEFFER in Einklang gebracht werden. Wahrscheinlich vollzieht sich bei dieser Reaktion nicht ausschließlich eine direkte Kernsubstitution, sondern ebenfalls eine indirekte Substitution, weil primär das H-Atom der OH-Gruppe von Brom ersetzt werden wird.

7. *Die Monobromierung des Naphthalins*[2]

Die Einführung eines Substituenten in Naphthalin ist vom theoretischen Standpunkt aus einfacher als die Substitution in C_6H_5A, weil das Naphthalinmolekül keinen Substituenten enthält und außerdem nur zwei isomere Monosubstitutionsprodukte möglich sind. Tatsächlich wurden bei einer experimentellen und theoretischen Untersuchung der Monobromierung des Naphthalins Ergebnisse erzielt, die für die Theorie der aromatischen Substitution im allgemeinen wichtig sind. Seitdem LAURENT im Jahre 1835 die Bromierung des flüssigen Naphthalins beschrieben hat, wurde diese Reaktion wiederholt überprüft. Der Literatur nach entsteht hierbei das α-Bromnaphthalin neben Dibromnaphthalinen, je nach der verwendeten Menge Brom.

[1] B. W. SPEEKMAN, Dissertation (Amsterdam 1941). – A. F. HOLLEMAN und I. J. RINKES, Rec. Trav. chim. *30*, 48 (1911). – B. W. SPEEKMAN und J. P. WIBAUT, Rec. Trav. chim. *61*, 383 (1942).

[2] Vgl. J. F. SUYVER und J. P. WIBAUT, Rec. Trav. chim. *64*, 65 (1945). – J. P. WIBAUT, F. L. J. SIXMA und J. F. SUYVER, ib. *68*, 525 (1949).

Es stellte sich heraus, daß bei der Einwirkung von Brom auf flüssiges Naphthalin im Temperaturbereich von 85–215° schon bei der tiefsten Temperatur neben dem α-Bromnaphthalin ein wenig des β-Isomeren gebildet wird. Außerdem konnten wir feststellen, daß die β-Substitution bei Verwendung von Eisenbromid oder Ferrichlorid als Katalysator stark gefördert wird.

Betrachten wir zuerst die nichtkatalytische Bromierung. Bei diesen Versuchen wurde 0,3 Mol Brom bei konstanter Temperatur langsam in 0,5 Mol flüssiges Naphthalin getropft. Die gestrichelte Kurve in der Abb. 6 zeigt den Prozentsatz des β-Bromnaphthalins im erhaltenen Gemisch der Monobromnaphthaline, deren Gesamtausbeute (auf Brom berechnet) von der gestrichelten Kurve 2 veranschaulicht wird.

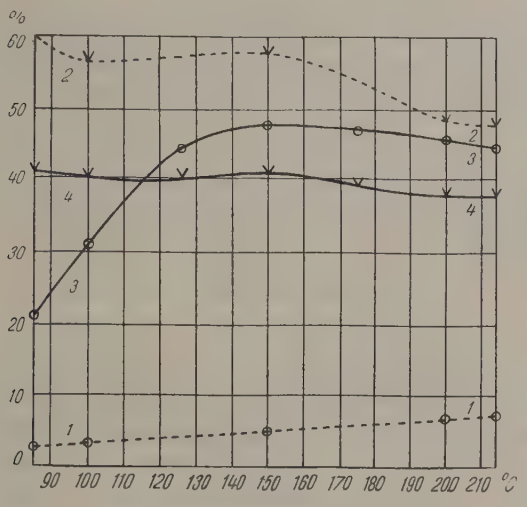


Abb. 6.

1 –⊖–⊖– β-Bromnaphthalin
2 ⩒⩒ Gesamtausbeute an $C_{10}H_7Br$ } in der nichtkatalytischen Bromierung von flüssigem Naphthalin

3 –⊖–⊖– β-Bromnaphthalin
4 ⩒⩒ Gesamtausbeute an $C_{17}H_7Br$ } in der katalytischen Bromierung von flüssigem Naphthalin

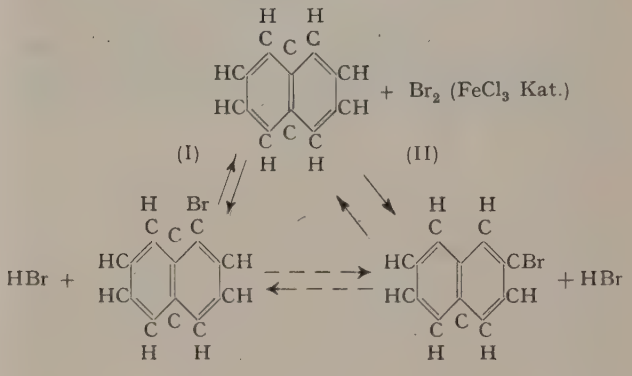
Das Verhältnis $\alpha:\beta$ entspricht der Formel $\ln k_\alpha/k_\beta = \varepsilon_\alpha - \varepsilon\beta/RT$, wenn die Differenz der Aktivierungsenergien für die Substitution an der β- und an der α-Stellung 2498 Grammkalorien gleichgestellt wird. Die Kurve 3 (Abb. 6) zeigt den Prozentsatz β, der bei der katalytischen Bromierung gebildet wird; bei diesen Versuchen wurde dem Naphthalin 0,025 Mol Ferrichlorid beigefügt. Aus der Kurve 3 geht hervor, daß bei Gegenwart des Ferrichlorids als Katalysator relativ viel mehr β-Bromnaphthalin gebildet wird als bei der nichtkatalytischen Reaktion. Die auf Brom berechneten Gesamtausbeuten der Monobromnaphthaline (Kurve 4) sind geringer als die der Kurve 2, weil sich bei der katalytischen Bromierung mehr Di- und Tribromnaphthaline bilden.

Obwohl die Kurve 3 unter genau festgelegten experimentellen Bedingungen reproduzierbar ist, stellte es sich doch heraus, daß dieser Kurve kein absoluter Wert zugesprochen werden kann, weil der gebildete Prozentsatz β von der Dauer des Experiments und vor allen Dingen von der Qualität des Katalysators abhängt.

8. *Umkehrbare Reaktionen*

Es ist klar, daß die Kurve 3 (Abb. 6) nicht durch eine Formel von Scheffer ausgedrückt werden kann. Es stellte sich heraus, daß die Bedingung, die der Ableitung dieser Formel zugrunde liegt, nicht erfüllt worden ist, weil bei der katalytischen Bromierung eine Umwandlung α-Bromnaphthalin → β-Bromnaphthalin vor sich gehen kann.

Wir stellten nämlich fest, daß die Bromierung des Naphthalins bei Anwendung des Ferrichlorids (oder des Ferribromids) als Katalysator reversibel ist und daß sich dabei die folgenden umkehrbaren Reaktionen vollziehen[1].



Wenn man ein Gemisch von Bromnaphthalin und 3 Mol % Ferrichlorid bei 150° mit gasförmigem Bromwasserstoff im Übermaß behandelt, entsteht ein Gemisch von Monobromnaphthalinen, das ungefähr zu 60% β- und zu 40% α-Isomeren enthält, unabhängig davon, ob man vom α- oder vom β-Bromnaphthalin ausgeht. Außerdem bildeten sich bei diesem Versuch etwa 16 Mol % Naphthalin und 6,5 Mol % Dibromnaphthalin.

Obwohl das Gleichgewicht $C_{10}H_8 + Br_2 \rightleftarrows C_{10}H_7Br + HBr$ bei 150° ausgesprochen auf der Seite des Bromnaphthalins liegt, werden bei der katalytischen Debromierung des Bromnaphthalins die Gleichgewichte der Reaktionen I und II erreicht; mittels dieser reversiblen Reaktionen wird eine Gleichgewichtseinstellung α- ⇄ β-Bromnaphthalin erzielt. In Abwesenheit eines Katalysators findet die Debromierung des Bromnaphthalins nicht statt, Es ist bemerkenswert, daß die Umlagerung α-Bromnaphthalin → β-Bromnaphthalin

[1] J. P. Wibaut und F. L. J. Sixma, Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wet., Amsterdam, *51*, 776 (1948). – J. P. Wibaut, F. L. J. Sixma und J. F. Suyver, Rec. Trav. chim. *68*, 525 (1949).

nur langsam und in geringem Maße vor sich geht, wenn man das α-Bromnaphthalin längere Zeit auf 150° mit vier Prozent des Gewichts an Ferrichlorid erhitzt. Die reversible Reaktion α-⇄ β-Bromnaphthalin verläuft also nicht über eine direkte Umlagerung, sondern über die obenerwähnte Bromierungs-⇄ Debromierungsreaktion.

Man kann die Gleichgewichtseinstellung α ⇄ β noch auf anderem Wege erreichen, indem man das Bromnaphthalin bei 150° der weiteren Bromierung unterzieht, wobei man weniger als ein Äquivalent Brom (0,5 bis 0,3) und Ferribromid als Katalysator anwendet. Das Reaktionsprodukt enthält Monobromnaphthalin, Dibromnaphthaline und Naphthalin. Die zurückgewonnene Menge des Monobromnaphthalins stellte sich als ein Gemisch von etwa 60% des β-Isomeren und 40% des α-Isomeren heraus, gleichgültig, ob vom α- oder vom β-Isomeren ausgegangen worden war. Die Ursache ist die reversible Debromierung der Dibromnaphthaline unter dem Einfluß des Ferrichlorids. Aus dem 1,2-Dibromnaphthalin gewannen wir auf diese Weise außer einer geringen Menge Naphthalin auch ein Gemisch von 44% des α- und 56% des β-Bromnaphthalins, welche Zahlen um nicht viel von den Gleichgewichtswerten (bei 150°) differieren.

Wir haben die Gleichgewichtswerte der Umlagerung α-⇄ β-Bromnaphthalin bei verschiedenen Temperaturen bestimmt.

Temperatur ° C . .	100	150	200	250
% β im Gleichgewichtsgemisch . .	63,1	62,3	60,4	58,8

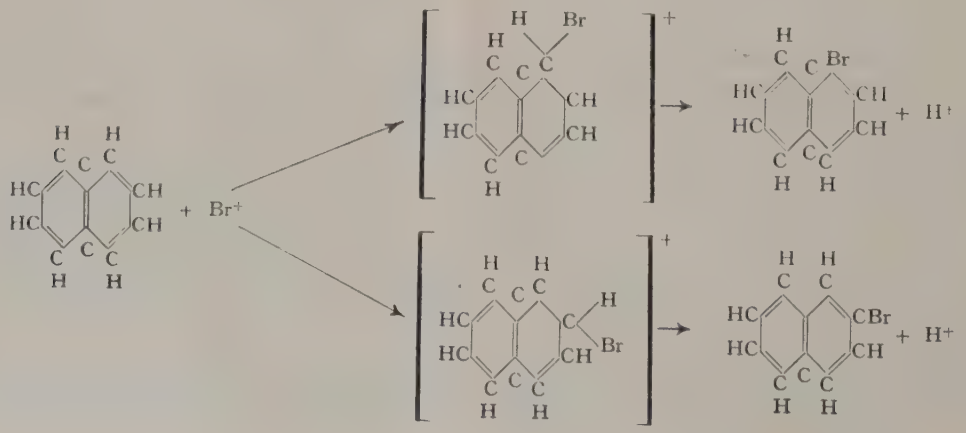
Hieraus errechnet man für die Umlagerungswärme $q_{\beta\to\alpha} = 500$ cal/Mol (± 130 unter Berücksichtigung der experimentellen Fehler in den Gleichgewichtsbestimmungen).

Zur Erklärung der Bildung großer Quantitäten des β-Bromnaphthalins bei der von Ferrichlorid oder Ferribromid katalysierten Bromierung des Naphthalins braucht man nicht eine β-dirigierende Wirkung des Katalysators anzunehmen, weil auch in Abwesenheit eines Katalysators, wenn auch in geringem Maße, β-Substitution vor sich geht. Die Energie des Zwischenzustandes der Reaktion wird infolge der Anwesenheit des Katalysators erniedrigt, wodurch die Bromierungsreaktion umkehrbar wird. Demzufolge kann sich unter günstigen Bedingungen ein Gemisch von α- und β-Bromnaphthalin bilden.

Tatsächlich konnten wir durch die Bromierung des Naphthalins bei Gegenwart von reinem anhydrischem Ferrichlorid als Katalysator bei 150° einen Gehalt von 60% β- im Gemisch der Bromnaphthaline erzielen; diese Methode eignet sich zu der präparativen Herstellung der β-Isomeren. Bei den von der Kurve 3 dargestellten Versuchen wurde das Gleichgewicht α ⇄ β nicht erreicht.

9. *Der Chemismus der Bromierung*

Aus verschiedenen Untersuchungen der Substitution an aromatischen Kernen bei verhältnismäßig tiefen Temperaturen (in der Flüssigkeitsphase) ist hervorgegangen, daß diese Reaktionen wahrscheinlich nach einem ionogenen Mechanismus verlaufen. Es wird deswegen für eine Bromierungsreaktion vorausgesetzt, daß sich das Brommolekül in ein positives und in ein negatives Teilchen spaltet, oder, was für die Erörterung auf dasselbe hinauskommt, daß das Brommolekül polarisiert wird. Der positive Teil des Brommoleküls bildet dann eine kovalente Bindung mit einem Kohlenstoffatom des aromatischen Ringes, wozu diesem Kohlenstoffatom zwei Elektronen zur Verfügung stehen müssen:



Wir nehmen an, daß unter dem Einfluß des positiv geladenen Bromteilchens der Naphthalinring derart polarisiert wird, daß am reagierenden Kohlenstoffatom (α oder β) zwei Elektronen lokalisiert werden. Diese Lokalisierung, durch die der Grundzustand des aromatischen Ringes gestört wird, erfordert Energie. Mit Hilfe der der Wellenmechanik entnommenen «molecular orbital method» hat Sixma[1] die Energiedifferenz zwischen einem Naphthalinkern, in dem zwei π-Elektronen an einem α-Kohlenstoffatom und einem Naphthalinkern, in dem zwei π-Elektronen an einem β-Kohlenstoffatom lokalisiert worden sind, berechnet; es wird hierfür $\Delta E = E_\beta - E_\alpha = 3180$ cal/Mol gefunden. Dieser Unterschied der Lokalisierungsenergien wird annähernd dem Unterschied der Aktivierungsenergien der α- und der β-Substitution entsprechen. Für die letztere Größe berechneten wir aus unseren Versuchen mit Hilfe von Scheffers Formel 2498 cal/Mol für die Reaktion in der Flüssigkeitsphase, und 4215 cal/Mol für die Reaktion in der Gasphase (siehe Abschnitt 10).

Die Übereinstimmung mit dem nach der «molecular orbital method» errechneten Wert ist befriedigend, wenn in Betracht gezogen wird, daß bei dieser theoretischen Ableitung einige Annäherungen vorgenommen worden sind. Aus der Berechnung geht weiter hervor, daß derselbe Wert für ΔE erhalten wird, wenn man anstatt einer elektrophilen Substitution eine Substitution durch Bromatome (Radikalsubstitution) oder eine nukleophile Substitution annimmt.

Wenn man einen elektrophilen Mechanismus annimmt, ist es einleuchtend, daß das Ferribromid infolge der Bildung eines komplexen Ions die Bildung positiv und negativ geladener Bromteilchen fördern kann.

$$Br_2 \rightarrow Br^+ + Br^-; \quad FeBr_3 + Br^- \rightarrow [FeBr_4]^-$$
$$C_{10}H_8 + Br^+ \rightarrow C_{10}H_7Br + H^+$$
$$[FeBr_4]^- \rightarrow FrBr_3 + Br^-$$

10. *Die Bromierung des Naphthalins ohne Katalysatoren; der Einfluß der Temperatur*

Der Verlauf der nichtkatalytischen Monobromierung des Naphthalins in der Gasphase wird von der Kurve 1 in der Abb. 7 dargestellt (das Molekularverhältnis Brom:Naphthalin = 1:2; der Kontaktstoff ist Bimsstein oder Glaswolle). Die Ausbeuten an Monobromnaphthalin belaufen sich auf 55–35% (auf Brom berechnet); sie nehmen jedoch oberhalb 550° infolge thermischer Zersetzung der primär gebildeten Bromnaphthaline rasch ab.

Der untere Teil der Kurve 1, bis etwa 300°, entspricht der Formel $\ln k_\beta/k_\alpha = 4215/RT$. In diesem Bereich wird also das Verhältnis $\alpha:\beta$ von dem Unterschied der Aktivierungsenergie der α- und der β-Substitution bedingt, wie auch bei der nichtkatalytischen Bromierung in der Flüssigkeitsphase.

Im Bereich von 350 bis 500° nimmt die relative Menge des β-Bromnaphthalins rasch zu; oberhalb 500° nähert sich das Verhältnis $\alpha:\beta$ dem Grenzwert 1. Das heißt gemäß einer Erörterung Speekmans[1], daß über 500° das Verhältnis $\alpha:\beta$ nicht von dem Unterschied der Aktivierungsenergie, sondern ausschließlich von der Häufigkeit der Zusammenstöße eines Brommoleküls (oder eines Bromatoms) mit einer α- oder β-Stelle des Naphthalinmoleküls bedingt wird; weil nun diese Häufigkeit für die beiden Stellen gleich groß ist, bilden sich auch gleiche Mengen des α- und des β-Isomeren.

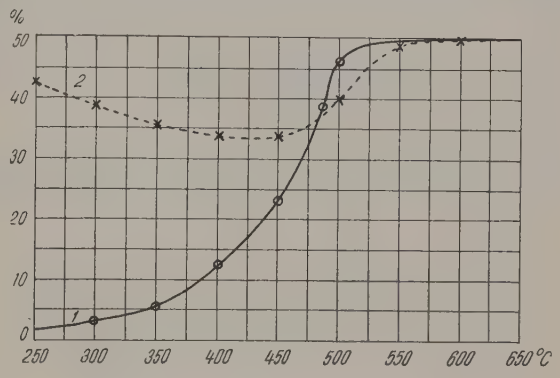


Abb. 7.
–⊖–⊖– % β-Bromnaphthalin in der nichtkatalytischen Bromierung von Naphthalindampf
--x---x-- % β-Bromnaphthalin in der katalytischen Bromierung von Naphthalindampf

Auf Grund einer von Sixma und Wibaut[2] entwickelten Theorie kann die S-förmige Gestaltung der Kurve 1 in der Abb. 7 erklärt werden. Wir nehmen an, daß die unterhalb 400° verlaufende Wandreaktion eine elektrophile Substitution sei. Oberhalb 400° wird die Adsorption der reagierenden Stoffe an der Wand sehr gering, wodurch die Geschwindigkeit der elektrophilen Reaktion stark abnimmt. Es findet dann vorwiegend die Gasphasereaktion statt, die nach einem atomaren Substitutionsmechanismus verläuft. Es handelt sich hier um eine Kettenreaktion:

$$Br_2 \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} 2\,Br$$

$$Br + C_{10}H_8 \overset{K_\alpha}{\rightarrow} \alpha\text{–}C_{10}H_7Br + H$$
$$Br + C_{10}H_8 \overset{K_\beta}{\rightarrow} \beta\text{–}C_{10}H_7Br + H$$

$$H + Br_2 \xrightarrow[K_3]{} HBr + Br$$
$$H + Br \rightarrow HBr$$

Die Aktivierungsenergie der atomaren Reaktionen K_α und K_β ist sehr niedrig, so daß diese Aktivierungs-

[1] Im Erscheinen begriffen (Rec. Trav. chim.)

[1] B. W. Speekman, Dissertation (Amsterdam 1941).

[2] F. L. J. Sixma und J. P. Wibaut, Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wet. Amsterdam *52*, 214 (1949).

energie bei 400° bei jedem Zusammenstoß überschritten wird. Es geht hieraus hervor, daß $K_\alpha/K_\beta = 1$ ist. Eine quantitative Formulierung dieser Theorie führt zu der Formel

$$\frac{\alpha}{\beta} = \frac{e^{\Delta E/RT} + Ce^{Q/RT}}{1 + Ce^{Q/RT}}. \quad (4)$$

In dieser Formel ist e die Basis der natürlichen Logarithmen, $\Delta E = 4215$ cal/Mol = die Differenz der Aktivierungsenergien der elektrophilen Substitution an der α- und an der β-Stellung; Q und C sind Konstanten, die aus den experimentell gefundenen Werten für α/β bei zwei Temperaturen bestimmt werden können. Für die Bromierung des Naphthalins finden wir

$$Q = -38200 \text{ cal/Mol},$$
$$C = 5 \cdot 10^{12}.$$

Wenn man diese Werte in die Gleichung (4) einsetzt, dann stellt sich heraus, daß diese Formel die experimentellen Ergebnisse sehr befriedigend ausdrückt. Die ausgezogene Kurve in der Abb. 8 stellt die berechneten Zahlen dar; die experimentell gefundenen Zahlen sind mit Kreisen (°) bezeichnet worden.

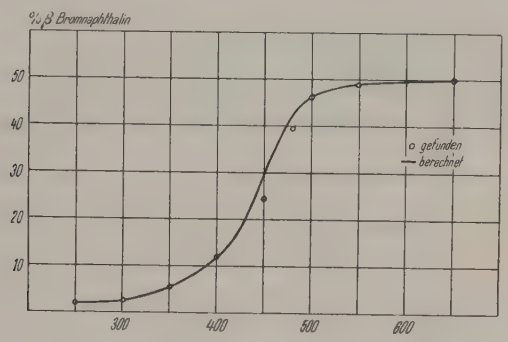


Abb. 8. Bromierung von Naphthalindampf.

Für die Monochlorierung von Naphthalindampf im Temperaturbereich von 220–550° ist ebenfalls eine S-förmige Kurve aufgefunden worden[1]. Auch diese Kurve wird nach Einsetzen der für Q und C geeigneten Werte in sehr befriedigender Weise von der Formel (4) dargestellt.

Ähnliches gilt für das Verhältnis para:meta, das bei der nichtkatalytischen Bromierung des Brombenzols in der Gasphase experimentell gefunden worden ist (vgl. die Kurven 2 und 3 in der Abb. 3). Bei Senkung der Temperatur geht der Wert des Terms $Ce^{Q/RT}$ der Formel (4) rasch zurück, so daß dieser Term bei niedrigen Temperaturen dem ersten Term gegenüber vernachlässigt werden kann. Die Formel (4) ist dann mit der Formel von SCHEFFER identisch.

[1] J. P. WIBAUT und G. P. BLOEM, wird publiziert in: Rec. Trav. chim.

11. *Die katalytische Bromierung des Naphthalindampfes*

Die katalytische Bromierung des Naphthalindampfes (an einem Bimssteinferribromid- oder an einem Bimssteinferrichlorid-Kontakt) wird von der Kurve 2 in der Abb. 7 dargestellt. Unter dem Einfluß des Katalysators nimmt nicht nur die gesamte Reaktionsgeschwindigkeit zu, sondern auch die β-Substitution wird stark gefördert. Analog unseren Feststellungen bei der katalytischen Bromierung in der Flüssigkeitsphase geht während der heterogenen Gasreaktion unter der Einwirkung des Katalysators eine Umlagerung $\alpha \rightarrow \beta$ vor. Auch hier verläuft diese Umsetzung nicht auf direktem Wege, sondern über das reversible Bromierungs-Debromierungs-Gleichgewicht (vgl. Abschnitt 7). Wird ein Gemisch von gasförmigem Bromnaphthalin und Bromwasserstoff in beträchtlichem Übermaß bei 300° sehr langsam über einen Ferribromidkontakt geleitet, dann enthält das Reaktionsprodukt außer einer geringen Menge Naphthalin α- und β-Bromnaphthalin, und zwar etwa im Gleichgewichtsverhältnis 40% α und 60% β. Dieses Ergebnis wurde übereinstimmend mit α- und β-Bromnaphthalin als Ausgangsprodukt erhalten.

Wird derselbe Versuch bei 400° angestellt, dann ist die Umsetzungsgeschwindigkeit viel geringer, so daß die Gleichgewichtslage nicht erreicht wird. Dieses anscheinend paradoxe Ergebnis kann folgendermaßen erklärt werden:

Je nachdem die Temperatur steigt, nimmt die Adsorption des Bromnaphthalins und des Bromwasserstoffes an der Katalysatoroberfläche ab, so daß das Verhältnis (absorbierte Moleküle):(Moleküle in der Gasphase) gleichfalls abnimmt. Weil wir mit strömenden Gasen arbeiten und die reversiblen Umsetzungen nur an der Katalysatoroberfläche vor sich gehen, werden, je nachdem die Temperatur höher ist, pro Zeiteinheit weniger Moleküle des α-Bromnaphthalins in das β-Bromnaphthalin (oder umgekehrt) umgewandelt werden.

Bei der von Ferribromid katalysierten Bromierung des Naphthalindampfes wird sich infolge der Umkehrbarkeit der Bromierungsreaktion ein Gemisch von α- und β-Bromnaphthalin bilden, in dem sich das Verhältnis $\alpha:\beta$ unter günstigen Bedingungen dem Gleichgewichtsverhältnis nähern kann. Die Kurve 2 in der Abb. 7 stellt keine Gleichgewichtswerte dar, weil diese nicht erreicht worden sind. Andererseits kann bei der nichtkatalytischen Bromierung das Verhältnis von 50% α und 50% β nicht überschritten werden, weil ohne Katalysator sogar bei 500° und darüber die Bromierungsreaktion nicht reversibel ist.

Die komplizierten Vorgänge, die bei der Monobromierung des Naphthalins stattfinden, können, wie oben gezeigt wurde, in theoretisch befriedigender Weise erklärt werden.

Summary

Investigations on pyridine derivatives have lead us to the study of the bromination of pyridine in the gaseous phase. At a reaction temperature of about 300°C the hydrogen atoms are substituted by bromine mainly at the 3: or 3:5-positions, while at a reaction temperature of 500°C the hydrogen atoms in 2: or 2:6-positions are substituted by bromine atoms.

Many dibromopyridines and tribomopyridines have become available by these bromination methods; some of these compounds are useful starting materials for synthetical work.

By the study of the high temperature bromination of monohalogenobenzenes or of naphthalene results of theoretical importance have been obtained.

The monobromination of bromobenzene in the gaseous phase, using *a pumice-ferric-bromide catalyst*, belongs to the ortho-para substitution type in the temperature range of 200–450°C; the ratio of the isomeric dibromobenzenes is determined by the differences in energy of activation required for substitution in the ortho-meta- or para-position in the bromobenzene molecule.

When the vapour phase bromination of bromobenzene or of chlorobenzene is carried out in a tube filled with pumice or graphite the substitution reaction belongs to the *ortho-para-type below 410°C*; from 410–600°C meta-substitution predominates.

In the *non-catalytic bromination of liquid naphthalene* in the temperature range of 85–215°C α-bromonaphthalene, besides small amounts of β-bromonaphthalene are formed. The ratio in which the two isomeric monobromonaphthalenes are formed is determined by the difference in energy of activation required for substitution in the α- or β-position in the naphthalene molecule. The same conclusion is valid for the non-catalytic bromination of gaseous naphthalene in the temperature range 250–300°C.

The value of the difference in activation energies for the bromination in the α- and β-positions of the naphthalene molecule is in accordance with the result of quantum-mechanical calculations.

If the non-catalytic bromination of naphthalene vapour is carried out in the temperature range 500–650°C equal amounts of α- und β-bromonaphthalene are formed. At these high temperatures the α:β-ratio is not determined by the difference in energy of activation for α- and β-substitution, but is exclusively dependent on the probability of collision of the bromine molecule (or the bromine atom) and an α- or β-position of the naphthalene molecule.

Theoretical considerations lead to a formula which accounts for the influence of the temperature on the ratio of α- and β-bromonaphthalenes formed in the whole temperature range of 215–650°C.

Quite different results have been obtained in the *catalysed bromination of naphthalene, using ferric-bromide or ferric-chloride* as a catalyst. In the catalytical bromination of liquid naphthalene at 150°C as much as 60% of β-bromonaphthalene may be formed. The bromination of naphthalene is reversible under the catalytic influence of ferric-chloride.

As a result of the reversible reaction: $C_{10}H_8 + Br_2 \rightleftarrows HBr + C_{10}H_7Br$ (α or β) an equilibrium α-bromonaphthalene $\rightleftarrows$ β-bromonaphthalene is established. At 150°C the equilibrium mixture contains 62·3% β-bromonaphthalene. The equilibrium values vary only slightly with the temperature.

In the catalytic bromination of naphthalene vapour (catalyst ferric-bromide on pumice) considerable amounts of β-bromonaphthalene are formed in the temperature range 250–400°C. Here again the formation of β-bromonaphthalene is the result of the reversible bromination-debromination of naphthalene.

The Internal Structure of Protein Molecules[1]

By FELIX HAUROWITZ[2], Bloomington, Ind.

I. *Constellation and internal structure of globular protein molecules*

The protein molecule consists, doubtlessly, of one or of several chains of amino acids linked to each other by peptide bonds. Measurements of the osmotic pressure, the diffusion rate and of the sedimentation equilibrium indicate molecular weights of 50,000 to 100,000 for serum proteins and for similar soluble proteins. If a mean value of 115 is assumed for each of the amino acid residues, a protein of the molecular weight of 100,000 must contain about 870 amino acid molecules.

According to x-ray analyses the length of each of the amino acid residues in the peptide chain is equal to 3·67 Å[1]. Hence, the length of a straight peptide chain of 870 amino acids corresponds to 3,200 Å. Solutions of thread-like molecules of such a length are highly viscous or gelatinous and show a strong flow-birefringence[2]. Since neither the serum proteins nor ovalbumin or hemoglobin have these properties, one has to conclude that their molecules are not threadlike, but that they have a sphere-like or ellipsoidal shape[2]. The classification of proteins according to which they consist either of sphere-like or of more or less thread-

[1] Presented in a colloquium of the Department of Chemistry of the Eidgenössische Technische Hochschule in Zürich (June 7, 1948).

[2] Present address: Dept. of Chemistry, Indiana University, Bloomington, Ind., U.S.A.

[1] R. COREY, J. Amer. Chem. Soc. *60*, 1598 (1938).

[2] G. BOEHM and R. SIGNER, Helv. chim. acta *14*, 1370 (1931).

like molecules was confirmed and developed[1]. The proteins with sphere-like or ellipsoidal shape have been designated as sphero-proteins[2], or as corpuscular proteins.

The diameter of sphero-protein molecules can be determined by viscosimetry, by the measurement of light-scattering or by electron-microscopy. Diameters from 50 to 150 Å, corresponding to a straight chain of 14 to 41 amino acids have been found. Since the protein molecule contains several hundred amino acids one must conclude that the peptide chains, which form the protein molecule, are either ramified or closely folded.

Contrary to many synthetic plastics, proteins are not built up of units linked to each other by three-dimensional covalent bonds. For, the molecules of globular proteins are spread almost instantaneously on the surface of water. They form there films whose height of 7 Å corresponds to the transverse diameter of a *single* peptide chain[3]. From the facility and the speed of spreading it is evident that the globular protein molecule cannot consist of three-dimensional covalent lattices and that their peptide chains cannot be wound up like the threads of a coil, because uncoiling would require a certain time.

The folding of the peptide chains in the original protein molecule and their unfolding, when a surface film is formed, are due to the ability of the peptide chains to rotate about the axes of the C—C and the C—N bonds. It is well known that also other thread-like macromolecules, such as those of rubber, fold or curl in their solutions so that their "constellation" undergoes a permanent alteration[4]. Contrary to these macromolecules *the constellation of protein molecules is specific and remains unchanged* even if the protein is dissolved, salted out, dialysed, cautiously dried and again dissolved. The maintenance of the original specific constellation is proved by the unchanged serological specificity of proteins treated in this way.

The serological specificity of a protein is demonstrated by its property to act as an antigen when injected parenterally into animals of an other species and to induce the formation of antibodies which react specifically with the injected protein. The specificity of the reaction between antigen and antibody is due to a structural adaptation of the surface of the antibody molecule to that of the antigen molecule[5]. This adaptation is highly specific so that even very similar atomic groups such as leucyl-glycyl or glycyl-leucyl residues can be differentiated from each other by means of serological methods[6]. In the same way the species-specific proteins of different animals can be differentiated, even if no differences are revealed by chemical methods.

[1] See by G. Boehm, Handb. biol. Arbeitsmethoden (E. Abderhalden), Abt. II, Teil 3, p. 3939 ff. (1939).
[2] F. Haurowitz, Kolloid-Z. *74*, 208 (1936).
[3] E. Gorter and F. Grendel, Biochem. Z. *201*, 391 (1928).
[4] W. Kuhn, Z. angew. Chem. *49*, 858 (1936).
[5] F. Breinl and F. Haurowitz, Z. physiol. Chem. *192*, 45 (1930), – F. Haurowitz, ib. *245*, 23 (1936); Lancet *152*, 149 (1947).
[6] C. Landsteiner, *The Specificity of Serological Reactions* (Cambridge, 1946).

It is obvious that the serological specificity of a protein is due to a unique unchangeable arrangement of the peptide chains. One is entitled, in other words, to assume an *unchangeable internal structure* of globular protein molecules. There are two possible causes for the maintenance of the internal structure of the protein molecules: (I) Chain-branching of the peptide chains by covalent bonds and (II) mutual association of the peptide chains by means of van der Waals forces. The possible importance of these two factors for the maintenance of the internal structure of proteins, the alteration of this structure during the denaturation of proteins and the biological significance of the internal structure will be discussed in the following sections.

II. *Chain-branching and formation of rings in protein molecules*

There is no doubt that the bulk of the amino acids is bound in the protein molecule according to formula I.

$$\ldots.NH\cdot CHR_1\cdot CO—NH\cdot CHR_2\cdot CO—NH\cdot CHR_3\cdot CO\ldots. \quad \text{I}$$

If R in formula I is an apolar group such as in alanine, valine, leucine, proline or phenylalanine, no other linkage of amino acids than that shown in formula I is possible. If, however, the residue R contains reactive groups such as $-COOH$, $-NH_2$, $-SH$ or $-OH$, they could react with each other, forming peptide, ester or thioester bonds[1]. Such bonds would cause a ramification of the main peptide chain (Fig. 1) or the formation of closed rings or networks (Fig. 2)[2]. During the last years such a ramification and formation of rings has been found in glycogen and other polysaccharides[3]. It is necessary, therefore, to examine the question, whether the same has to be assumed for proteins.

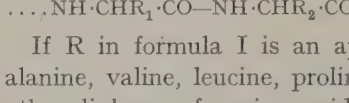


Fig. 1.

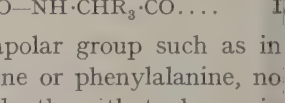


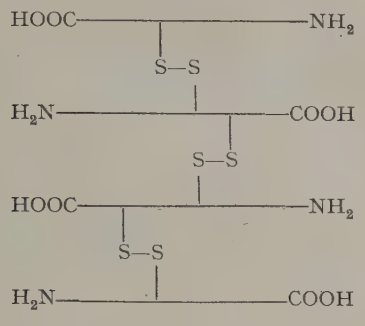
Fig. 2.

(a) *Chain-branching by cystine molecules.* As cystine is a diamino-dicarboxylic acid, it is evident that two parallel peptide chains are interlinked by the dithio group of the cystine molecule (Formula II).

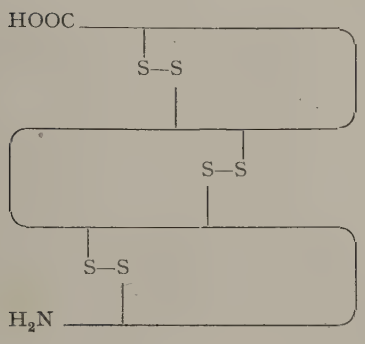
$$\begin{array}{l} \ldots.NH\cdot CHR\cdot CO—NH\cdot CH\cdot CO—NH\cdot CHR\cdot CO\ldots. \\ \qquad\qquad\qquad\quad \cdot \\ \qquad\qquad\qquad\quad CH_2 \\ \qquad\qquad\qquad\quad \cdot \\ \qquad\qquad\qquad\quad S \\ \qquad\qquad\qquad\quad \cdot \\ \qquad\qquad\qquad\quad S \\ \qquad\qquad\qquad\quad \cdot \\ \qquad\qquad\qquad\quad CH_2 \\ \qquad\qquad\qquad\quad \cdot \\ \ldots.CO\cdot CHR\cdot NH—CO\cdot CH\cdot NH—CO\cdot CHR\cdot NH\ldots. \end{array} \quad \text{II}$$

[1] A. Chibnall, Proc. Roy. Soc., Ser. B *131*, 136 (1941).
[2] H. Mosimann and R. Signer in: *The Svedberg 1884–1944* (Uppsala/Stockholm, 1945), p. 464.
[3] W. Haworth, E. Hirst, and D. Isherwood, J. Chem. Soc. *1937*, 577. – K. H. Meyer, Naturwissenschaften *29*, 287 (1941).

Many proteins contain more than one cystine molecule so that structures as those shown in formulæ III and IV are to be expected.



III



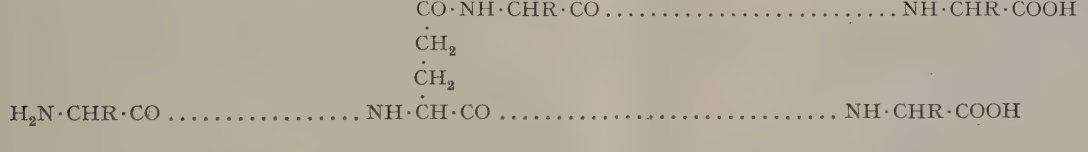
IV

The dithio bond S—S can be split by oxidation with performic acid[1] or by reduction with thioglycollic acid[2] without any apparent diminuition of the molecular weight[2]. The viscosity of solutions of ovalbumin or of the serum proteins treated with performic acid is not different from that of proteins treated with formic acid; likewise the treatment with thioglycolate can be replaced by a treatment with acetate without any effect on the viscosity of the protein solutions[3]. One has to conclude, therefore, that the internal structure of these proteins is maintained predominantly by other atomic groups than the dithio groups of the cystine molecules and that the formulæ III and IV are not quite adaquate.

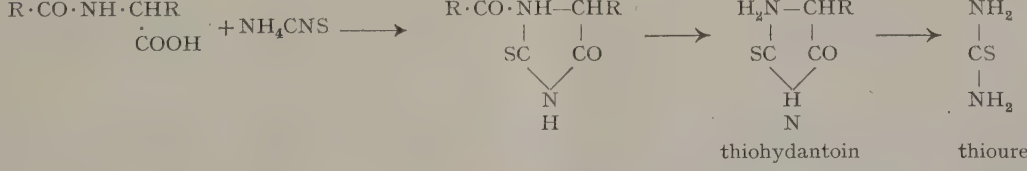
(b) *Chain-branching by amino-dicarboxylic acids.* This kind of chain-branching is suggested by the formula of glutathion, in which the γ-carboxylic group forms a peptide bond with the terminal amino group of the dipeptide cysteyl-glycine. An analogous linkage of aspartic or glutamic acid in the protein molecule would give rise to chain-branching as shown in formula V.

In spite of chain-branching the number of free COOH groups remains unchanged in such a case, because the new side chain has a terminal COOH group (see formula V). But this group is an α-carboxy group and is separated from the next NH group only by one C atom, while the terminal β- and γ-carboxy groups of aspartic and glutamic acid are separated from the NH group by 2 and 3 C atoms respectively. In order to differentiate the terminal α-carboxy groups from β- and γ-carboxy groups we have condensed proteins with ammonium thiocyanate in the presence of acetic anhydride. It is evident from formula VI that only α-carboxy groups are able to give rise to the formation of a thiohydantoin ring, because the α-imido group is indispensable for the closure of the ring (formula VI).

If the condensation products of proteins with thiocyanates are treated with N—NaOH, thiourea is formed, which can be determined by its color reaction with aquoferricyanide[1] or by its conversion into urea[2]. The amount of thiourea obtained from casein, ovalbumin, zein, beef serum albumin and beef globin, after their treatment with thiocyanate, did not exceed one molecule of thiourea per protein molecule[3]. Since the yield of thiourea from thiohydantoins is 25 to 30%, more than one terminal α-carboxy group might be present in each of the examined protein molecules. But it is evident that their number cannot be very large,



V

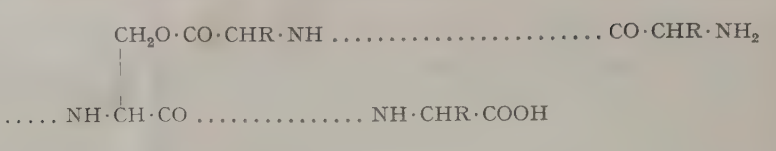


VI

We have attempted to prove the presence of γ-glutamyl bonds by the partial hydrolysis of different proteins with trypsin and the oxidation of the digestion product. Since α-peptide bonds are split by trypsin at

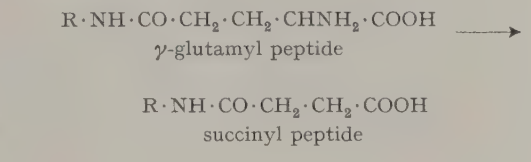
[1] F. Sanger, Nature *160*, 295 (1947).
[2] M. Anson, J. Gen. Physiol. *25*, 355 (1942).
[3] F. Haurowitz, F. Bursa, and A. Tümer, unpublished experiments.

[1] I. W. Grote, J. Biol. Chem. *93*, 25 (1931).
[2] R. Kitamura, J. pharm. Soc. Jap. *55*, 72 (1935); quot. Chem. Zbl. 1935, II, 1347.
[3] F. Haurowitz, F. Bursa, and S. Lisie, 17. Int. Congr. Physiol. 79 (1947) and unpublished experiments.



VI

a higher rate than the γ-glutamyl bonds of glutathion[1], it was expected that γ-glutamyl peptides would be found after the treatment of proteins with trypsin. The cautious oxidation of γ-glutamyl peptides with H_2O_2, NaOBr or with chloramine T furnishes succinyl peptides which, on total hydrolysis with HCl, give succinic acid:



γ-glutamyl peptide

succinyl peptide

While preliminary experiments with this method had furnished small amounts of succinic acid[2], later experiments with an improved method gave much lower yields[3]. Probably only very few glutamic acid molecules give rise to chain-branching of the type shown in formula V. It had been proved, before, that the α-amino groups of glutamic acid and of glutamine are not free in the protein molecule[4]. One has to assume, therefore, that glutamic acid and glutamine cannot be bound according to the formulæ R·NH·CO·CHNH$_2$·CH$_2$·CH$_2$·CO·NH·R or R·NH·CO·CHNH$_2$·CH$_2$·CH$_2$·CO·NH·CO·R. Both, glutamic acid as well as glutamine are bound according to formula I by means of the α-amino groups, and most of them also by the α-carboxy group. While the animal proteins contain only a few γ-glutamyl residues, a larger number of these was found in the capsular protein of *Bacillus anthracis*[3,5].

(c) *Chain-branching by diamino, hydroxy-amino and by thioamino acids.* The problem is here similar to that discussed in the preceding section. If the amino groups of lysine, the hydroxy groups of serine, threonine or hydroxyproline or the thio groups of cysteine combine with the terminal α-carboxy group of a peptide chain, then the other end of this peptide chain will bear a free α-amino group and the protein molecule will contain more than one terminal α-amino group. Actually many proteins, when treated with nitrous acid, give more N_2 gas than the amount corresponding to the number of their lysine molecules. The excess of N_2 formed in this way corresponds to 9 amino groups in serum albumin[1], 4 in ovalbumin[2], 4 in lactoglobulin[1], 9 in cytochrome[3] and 17 in insulin[4].

It should be borne in mind, however, that glycyl peptides give more than the calculated amount of N_2 and that N_2 can sometimes be formed by the action of nitrous acid on acid amides[6] or on N-free reducing substances[7]. Zein, according to careful analyses, has no excess of free α-amino groups[8].

The terminal α-amino groups of different proteins have been labeled by substituting them with phenylhydantoin[9] or with dinitrofluorobenzene[10]. By hydrolysing the dinitrophenyl-proteins the dinitrophenyl derivatives of the terminal amino acids were obtained. According to SANGER[10] the terminal α-amino groups of the insulin subunit (equiv. weight = 12,000) are formed by 2 molecules of glycine and 2 of phenylalanine, while the 3 terminal α-amino groups of lactoglobulin are those of leucine and the 6 terminal α-amino groups of horse hemoglobin those of valine[10]. It is not yet known whether the multiplicity of terminal α-amino groups is due to the presence of several parallel peptide chains according to formula III or to ramifications as shown by formula VII[2].

Formula VII shows an ester bond formed by the hydroxy group of serine. Analogous bonds could be formed by the other hydroxyamino acids. The presence of these ester bonds has neither been proved nor excluded hitherto.—A similar structure as that shown in formula VII would arise if the ε-amino groups of lysine were involved in the formation of peptide bonds. The existence of such peptide bonds is disproved, however, by the fact that all of the ε-amino groups of lysine are deaminised when proteins are treated with nitrous acid. One has to conclude, therefore, that the ε-amino groups of lysine are free in the protein molecule.

Finally, it should be mentioned that the presence of ureido bonds of the formula —NH·CO·NH— has been

[1] W. GRASSMANN, H. DYCKERHOFF, and H. EIBELER, Z. physiol. Chem. *189*, 112 (1930).

[2] F. HAUROWITZ and M. VARDAR, C. r. Soc. Turq. Sci. Nat. *11*, 33 (1944).

[3] F. HAUROWITZ and F. BURSA, Biochem. J. *44*, 509 (1949).

[4] F. HAUROWITZ and M. TUNCA, Biochem. J. *39*, 443 (1945).

[5] G. IVANOVICS and V. BRUCKNER, Naturwissensch. *25*, 250 (1937). – W. E. HANBY, and N. H. RYDON, Biochem. J. *40*, 297 (1946).

[6] E. BRAND, L. SAIDEL, W. GOLDWATER, B. KASSELL, and R. RYAN, J. Amer. Chem. Soc. *67*, 1524 (1945).

[7] A. CHIBNALL, Proc. Roy. Soc., Ser. B *131*, 136 (1941).

[8] H. THEORELL and A. AKESON, J. Amer. Chem. Soc. *63*, 1804 (1941).

[9] J. EDSALL, Ann. N.Y. Acad. Sci. *47*, 229 (1946).

[10] M. VISCONTINI, Helv. chim. acta *29*, 1491 (1946).

[11] A. CHIBNALL and R. WESTALL, Biochem. J. *26*, 122 (1938).

[12] H. CARTER and S. DICKMANN, J. Biol. Chem. *149*, 571 (1943).

[13] T. LAINE, Ann. Soc. Acad. Fenn. A II, no. 11 (1944).

[14] J. ROCHE, M. RAYMOND, and J. SCHILLER, C. r. Akad. Sci. *219*, 38 (1944).

[15] F. SANGER, Biochem. J. *39*, 507 (1946). – F. SANGER and R. PORTER, Biochem. J. *42*, 287 (1948).

suggested[1]. The existence of ureido bonds is supported by the fact that proteins upon hydrolysis with 20% sulphuric acid furnish several molecules of carbonic acid[2]. We have been able to show, however, that the same amount of CO_2 is obtained when the protein is heated with 0·1-*N* sulphuric acid to lower temperatures such as 80°[3]. Evidently the carbonic acid originates from bicarbonate ions bound to cationic groups of the protein. The existence of ureido groups is disproved by these experiments.

(d) *Formation of rings in protein molecules.* Each of the types of chain-branching mentioned in the preceding sections (a)—(c) can give rise to the formation of rings as soon as more than one point of branching exists in one protein molecule (Fig. 2). Hitherto the presence of such rings, formed by covalent bonds, has been proved only in the toxic peptide gramicidin[4]. Its cyclopeptide ring is formed by 5—10 amino acids.

Diketopiperazine rings are formed if proteins are treated with strong acids[5], while the heterocyclic pyrrole ring arises very easily from glutamine, even at body temperature. It is not astonishing, therefore, that a certain amount of pyrrole derivatives is obtained, if proteins are treated with acetic anhydride or with other dehydrating reagents[6]. It is not necessary to assume that other pyrrole rings than those of proline and oxyproline are present in the original protein molecule. The same is valid for the assumption that trioxy-triazine rings (so-called cyclole rings) form the scaffold of the protein molecule[7]. The large number of OH groups postulated by the cyclol hypothesis has never been found, neither by methylation, nor by acetylation[8] or by exchange with H_2O^{18} [9].

III. *Intramolecular bonding by van der Waals forces*

While the energy of covalent bonds amounts to 50—100 kcal per mole, that of bonds due to van der Waals forces varies from 1 to 10 kcal. The different types of such bonds existing in protein molecules will be discussed in the following sections.

It has been proved by different authors that the molecules of certain proteins such as hemoglobin consist of "sub-units" held together by van der Waals forces and that the cleavage of the molecule into sub-units can be brought about by the action of urea at room temperature or by similar mild procedures. These reports are confusing, to a certain degree, because true molecules, according to the classical definitions, are formed by atoms held together by covalent bonds. It is evident, therefore, that the real molecules are formed, in such a case, by the so-called sub-units and that the alleged protein molecules are micelles or aggregates of several molecules.

(a) *Dipole-dipole and dipole-ion bonds.* Polar atomic groups attract each other mutually and are attracted also by ionic groups. This attraction results, obviously, from the action of Coulomb forces.

According to the fundamental laws of electrostatics, poles of the same kind of charge repel each other, while those of the opposite kind attract each other. While the attractive power increases when the particles are approaching each other, the repulsion, obviously, decreases as soon as the particles are removed from each other. Accordingly the force of attraction will always surpass that of repulsion and a *mutual approach of the polar groups will always result.*

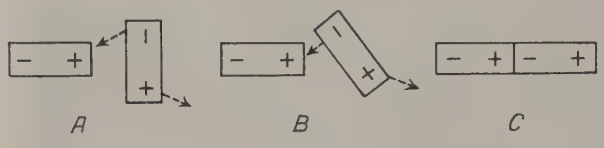
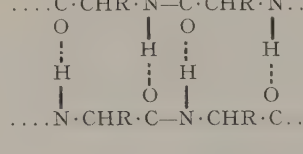


Fig. 3. – Association of dipoles.

The strongest electrostatic forces are exerted by the ionic groups COO^- and NH_3^+. But also the groups OH, NH_2, SH, COOH, the heterocyclic N-atoms and the peptide bonds have to be considered as dipoles. The polarity of these groups is due to the fact that the electron pair, which links the H atom to N, O or S, is not situated in the center of the bond, but is nearer to the N, O or S than to the H atom. Thereby the H atom becomes the positive pole, N, O or S the negative pole of the resulting dipole. Owing to its positive character the H atom is attracted by the negative poles of adjacent dipoles, mainly by O or N atoms, so that "hydrogen bonds" are formed[1]. Since peptide linkages form the bulk of the polar groups of the protein molecule, hydrogen bonds between these groups (formula VIII) have a special importance[2].



Owing to their mutual attraction the polar atomic groups of the peptide chains act as a cement, so that the peptide chains of dry proteins are very closely attached to each other and a high density of 1·30 to 1·35 results[3]. If dry proteins are dissolved in water the structural arrangement of their peptide chains remains essentially intact, as shown by the unchanged

[1] R. Synge, Bull. Soc. Chim. Biol. *27*, 286 (1945).
[2] M. Dunn, J. Amer. Chem. Soc. *47*, 2564 (1925).
[3] F. Haurowitz and M. Bilen, unpublished experiments.
[4] R. Consden, A. Gordon, A. Martin, and R. Synge, Biochem. J. *41*, 596 (1947).
[5] E. Abderhalden, Z. physiol. Chem. *265*, 23 (1940).
[6] N. Troensegaard, *The Structure of Protein Molecules* (Kopenhague, 1944); Acta chem. Scand. *1*, 672 (1947).
[7] D. Wrinch, Proc. Roy. Soc., Ser. A *160*, 59 (1937); Nature *145*, 669 (1940).
[8] F. Haurowitz, Z. physiol. Chem. *256*, 28 (1938).
[9] W. Mears and H. Sobotka, J. Amer. Chem. Soc. *61*, 880 (1939).

[1] W. Latimer and W. Rodebush, J. Amer. Chem. Soc. *42*, 1419 (1920).
[2] A. Mirsky and L. Pauling, Proc. Nat. Acad. Sci. *22*, 439 (1936).
[3] E. Cohn and J. Edsall, *Proteins, Amino Acids and Peptides* (New York, 1943) p. 375.

serological specificity, the unaltered shape of the protein crystals and by x-ray analysis. By means of the latter method it has been demonstrated that *the interior of globular protein molecules is very poor in water* and that the hydration of proteins is mainly due to layers of water molecules on the surface of the globular molecules (Perutz a. o.[1]). Apparently the hydrogen bonds between adjacent peptide chains >N–H–OC< are stronger than those between peptide linkages on the one hand and water molecules on the other, so that water molecules cannot penetrate into the interior of the globular protein molecule. The strong mutual attraction of parallel peptide chains is either due to the multiplicity of their hydrogen bonds or to the fact that also salt bridges are involved in the reciprocal linkage of these chains.

That a multiplicity of even very weak bonds may give rise to very stable structures is evident from a comparison with two magnetic bodies held together by magnetic forces. While such bodies stick to each other very loosely, if there are few points of contact, enormous forces are required to separate them, if large parts of their surfaces touch each other.

(b) *Ion-ion bonds* (*salt bridges*). These are bonds between positively charged NH_3 groups of diamino acids and negatively charged COO^- groups of amino-dicarboxylic acids. Ion-ion bonds are much more stable than bonds of the type dipole-dipole.

The power of attraction operating between two ionic groups over the distance r is proportional to r^{-2}, whereas the power of attraction of two non-ionic dipoles is proportional to r^{-6}. Accordingly the power of attraction decreases very rapidly in the latter case when r increases, and the range of attraction is limited to closely adjacent dipoles. The bonding energy of salt bridges amounts to 5–10 kcal[2], a figure which is not much higher than that assumed for the attraction of non-ionic dipoles. But the power of attraction between ionic groups of an opposite charge does not decrease so rapidly with an increase of r. Therefore, salt bridges split by thermal movements will be restored again.— The force operating between an ionic and a non-ionic polar group is intermediate between that of the ion-ion and the dipole-dipole type. Thus, it has been demonstrated that the bonding energy of water molecules adsorbed to an ionic surface decreases from 6·55 kcal for the first layer of water molecules to 1·38 and 0·42 kcal for the second and third layer respectively[3].

Salt-bridges are split easily by the addition of strong acids or bases. The negatively charged COO^- groups are transformed into uncharged COOH groups in the presence of strong acids. Similarly NH_3 groups loose their charge in the presence of alkalis and are transformed into uncharged NH_2 groups. As soon as the protein looses its positive or its negative charge its peptide chains will contain only negatively or only positively charged atomic groups. The mutual repulsion operating between charges of the same sign will then lead to the unfolding of the peptide chains and to an increase of the volume occupied by the dissolved molecule. This is manifested by the increased viscosity of acid or alkaline protein solutions as compared with the viscosity of neutral solutions[1]. Since no increase in viscosity is observed, when neutral solutions of proteins are stored for several hours or days, one has to conclude that the salt bridges are resistent to the thermal movements of water molecules and of peptide chains at room temperature.

(c) *Bonding by non-polar groups.* The attractive forces which are effective between non-polar atomic groups such as the aliphatic side chains of valine, leucine or phenylalanine, are much weaker than those between polar or ionic groups. This is evident from the low melting point of paraffins and similar substances, whose molecules in the solid state are linked to each other by forces between non-polar groups. It is not likely that these weak forces have any importance for the maintenance of the internal structure of protein molecules. They are important, however, for the formation of protein-lipide complexes.

IV. *Denaturation*

If proteins are treated with strong acids or bases, with organic solvents with heat or with other chemical and physical agents, their *internal structure is changed*. This phenomenon is called denaturation. Denaturation cannot be attributed to the cleavage or to the closure of peptide bonds, because the volume of the protein solution remains unchanged during denaturation[2]; the hydrolytic cleavage of peptide bonds is accompanied by the consumption of one water molecule per peptide bond, so that the volume of the solution would diminish considerably if hydrolysis occured. For the same reason the formation of peptide bonds would be accompanied by an increase of the volume of the solution. The view that denaturation is not due to the cleavage of covalent bonds is also supported by the fact that denaturation is brought about by very mild methods such as the action of urea at room temperature.

The alteration of the internal structure of a protein molecule during its denaturation is demonstrated, schematically, by Fig. 4 *A* part of the peptide chains of the native molecule is shown by 4 A. Upon the addition of NaOH the positively charged NH_3 groups loose their charge according to the equation: $-\overset{+}{N}H_3 + \overset{-}{O}H \rightarrow NH_2 + H_2O$, so that the salt bridges are opened and the peptide chains unfold (Fig. 4 B). The degree of unfolding depends on the time of the action of NaOH. If the displacement of the peptide chains is

[1] J. Boyes-Watson, E. Davidson, and M. Perutz, Proc. Roy. Soc. Ser. A *191*, 83 (1946).
[2] M. Davies, Ann. Reports Chem. Soc. *43*, 6 (1947).
[3] W. Harkins, Science *102*, 294 (1945).

[1] G. Ettisch and G. Schulze, Biochem. Z. *239*, 48 (1931).
[2] F. Haurowitz, Kolloid-Z. *74*, 208 (1936).

very large, the alteration of the internal structure becomes irreversible. Neutralization of the alcaline solution by acids leads again to the formation of positively charged groups (Fig. 4 *C*), so that intramolecular salt bridges are formed again. But a part of the displaced ionic groups remains unsaturated and is available for the formation of *salt-bridges between adjacent protein molecules*. In this way large aggregates of protein molecules are formed and coagulation of these aggregates occurs, as soon as their size exceeds a certain limit[1].

In an analogous manner the negatively charged groups lose their charge, if an acid is used as denaturing agent. Denaturation by heat-treatment is due to a scission of the salt-bridges by thermal movements of the atomic groups. In all these cases the essential

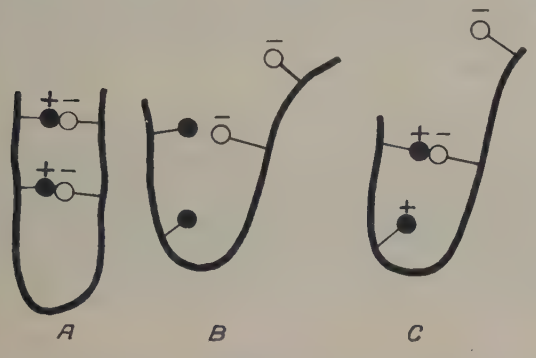


Fig. 4. – Peptide chain of a protein. *A* native, *B* in NaOH solution *C* neutralized (denatured).

process is the unfolding of the peptide chains and the simultaneous penetration of water molecules between these chains. Dry proteins cannot unfold in this manner. Therefore dry proteins are much more resistent to heat than dissolved proteins.

The assumption that denaturation consists, essentially, in an unfolding of closely folded peptide chains, has been advanced for the first time by WU[2]. This assumption is supported by the *higher reactivity of denatured proteins*. They give more intensive color reactions with nitroprussides[3], with Folin's phenol reagent[4] and with diazobenzene sulfonic acid[5] than the same proteins in the native state. The low reactivity of native proteins is due to the inaccessibility of certain atomic groups inside the closely folded peptide chains. This steric protection of reactive atomic groups is very important from the biological view-point. It is responsible for the *resistence of native proteins to the action of proteolytic enzymes*. Denatured globular proteins are hydrolysed by trypsin or by papain at a higher rate than the same proteins in the native state[1]. The well-known resistence of living tissues against digestion is due to this fact. It is not necessary to postulate a specific vital resistence or to assume the presence of specific anti-enzymes.

If the action of the denaturing agent does not last a long time the first phases of denaturation may be reversible[2]. But the renaturation is not complete. By means of sensitive methods differences between native and apparently renatured proteins have been revealed[3].

V. *Biological importance of the internal structure of proteins*

The denaturation of native proteins is accompanied not only by a loss of the original internal structure, but also by a loss of the serological specificity and, if the protein has an enzymic or a hormonal action, by a loss of this biological activity. It is obvious, therefore, that the maintenance of the specific internal structure is highly important from the biological point of view.

The mechanism by which the specific internal structure of native proteins is built up, is not yet clear. We know, however, that this mechanism is altered by the injection of heterogenous antigens, so that antibodies are formed instead of the normal proteins. These antibodies are protein molecules whose surfaces are structurally adapted to the surface of the foreign antigen molecules[4]. One can reasonably assume, therefore, that the specificity of the normal proteins is due to the adaptation of their molecules to templates present in the normal cells[5]. The biosynthesis of proteins occurs, most probably, in two steps. In the first of them a positive replica of an expanded protein template film is formed; in a second step the two-dimensional replica folds to form a three-dimensional globular particle, which is complementarily adapted to an adjacent cellular polar molecule or to a foreign antigen molecule[6]. While in the latter case a true antibody will be formed, adaptation to a normal cellular constituent furnishes "auto-antibodies". (TYLER[7]).

It is evident from the preceding sections that the specificity of the internal structure of a protein molecule is dependent on two different factors: (I) the number of the different types of amino acids and their order in the peptide chain, (II) the kind of folding of the peptide chains. It is obvious, moreover,

[1] F. HAUROWITZ, Kolloid-Z. *77*, 65 (1936).
[2] H. WU, Chin. J. Physiol. *3*, 1 (1929); *5*, 321 (1931).
[3] A. MIRSKY and M. ANSON, J. Gen. Physiol. *19*, 427, 439 (1936).
[4] M. ANSON, J. Gen. Physiol. *24*, 399 (1941).
[5] F. HAUROWITZ and S. TEKMAN, Acta biochem. *1*, 484 (1947).

[1] F. HAUROWITZ, M. TUNCA, P. SCHWERIN, and V. GÖKSU, J. Biol. Chem. *157*, 621 (1945).
[2] M. ANSON and A. MIRSKY, J. Gen. Physiol. *14*, 597, 725 (1931).
[3] H. NEURATH, C. COOPER, and J. ERICKSON, J. Biol. Chem. *142*, 249 (1942). – F. BERNHEIM, H. NEURATH, and J. ERICKSON, J. Biol. Chem. *144*, 259 (1942). – F. HAUROWITZ and H. WAELSCH, Z. physiol. Chem. *182*, 82 (1929).
[4] F. BREINL and F. HAUROWITZ, Z. physiol. Chem. *192*, 45 (1930). – F. HAUROWITZ, ib. *245*, 23 (1936); Lancet *152*, 149 (1947).
[5] F. BREINL and F. HAUROWITZ, Z. physiol. Chem. *192*, 45 (1930). F. HAUROWITZ, ib. *245*, 23 (1936); Lancet *152*, 149 (1947).
[6] F. HAUROWITZ, Quarterly Rev. Biol. *24*, 93 (1949).
[7] A. TYLER, Physiol. Rev. *28*, 180 (1948).

that the probability of a definite arrangement of the amino acids and of the peptide chains is much smaller than that of randomly arranged amino acids and randomly folded peptide chains. The building up of a definite unique structure instead of a mixture of randomly arranged structures is connected with a loss of entropy. The magnitude of this difference in entropy can be calculated if some simplifying assumptions are made. Thus, for a protein containing 150 molecules of each of the 20 amino acids an entropy difference of 5 cal per degree per amino acid residue results (Butler[1]). At 37° (T = 310°) this corresponds to a difference in energy of approximately $5 \times 310 =$ 1,550 cal per amino acid residue. Since the average equivalent weight of these residues is about 115, the excess in energy required for the formation of a given specific arrangement is equal to $1{,}550/115 = 14$ cal per g of the protein. This is an astonishingly low figure, if account is taken of the fact that the oxidation of one g of protein furnishes approximately 4,100 calories[1]. The conclusion has to be drawn, that *the organism can build up the complicated specific structures of the protein molecules without any considerable increase in the expenditure of energy.*

The same result has been obtained by the experimental determination of the difference in energy between native and denatured proteins. The "heat of denaturation" has been determined as the difference between the heats of reaction of native and of denatured protein with KOH[2]. It amounts to 2·5 cal per g of protein, a figure which is still lower than that obtained by the above calculation.

In the present communication it has been dealt with the globular molecules of spheroproteins. It must be borne in mind, however, that the real scaffold of the cells is formed by insoluble proteins and by viscous protein solutions, which grant to the cell its characteristic semisolid consistency. The molecules of these *structural proteins* are probably elongated thread-like molecules, each of them corresponding to a single long peptide chain. Evidently one cannot speak of an internal structure of the molecule in such a case. Recent investigations on gelatin and on collagen, by means of the electron microscope and by x-rays, have revealed, however, transversal bands, spaced approximately 700 Å from each other[1]. It is suggested by this finding that the fibers of fibrous proteins consist of a chain of globular protein particles, possessing a definite internal structure[2].

It has been shown above that the denaturation of native proteins results in a loss of their resistence to proteolytic enzymes. The same is valid for the intracellular proteins. As soon as they are damaged artificially by an external agent, they are exposed to the action of the intracellular enzymes, so that the cell undergoes autolysis. One is tempted to assume that the ageing and the natural death of living organisms is due to the same phenomenon, to a gradual unfolding of the intracellular spheroproteins and, thereby, a loss of their resistence to the intracellular proteolytic enzymes.

Zusammenfassung

1. Die spezifische Konstellation der globulären Eiweißmoleküle bleibt im Gegensatz zu der Konstellation anderer Fadenmoleküle unverändert, wenn das Protein in Wasser gelöst, ausgesalzen oder vorsichtig getrocknet wird. Die große Stabilität der spezifischen Konstellation wird einer bestimmten inneren Struktur der Proteine zugeschrieben.

2. Die innere Struktur globulärer Proteinmoleküle wird vor allem durch Salzbrücken zwischen positiv und negativ geladenen Atomgruppen aufrechterhalten, ferner durch H-Bindungen, durch Dithiobrücken, vielleicht auch durch geringgradige Verzweigung der Peptidketten.

3. Denaturierung besteht in einer Änderung der spezifischen inneren Struktur eines Proteins, herbeigeführt durch eine Sprengung der Salzbrücken. Denaturierung führt zu einer Entfaltung der im nativen Protein dicht gefalteten Peptidketten. Die Resistenz nativer Proteine und lebender Zellen gegen proteolytische Fermente geht bei Denaturierung verloren, da durch die Entfaltung der Peptidketten Angriffspunkte für die proteolytischen Fermente freigelegt werden.

4. Der Mechanismus der Bildung der spezifischen Struktur nativer Proteine im lebenden Organismus wird erörtert.

[1] J. Butler, Nature *158*, 153 (1946).
[2] J. Conn, G. Kistiakowsky, and R. Roberts, J. Amer. Chem. Soc. *62*, 1895 (1940); *63*, 2080 (1941).

[1] H. Baer, J. Amer. Chem. Soc. *66*, 1297 (1944). – F. O. Schmitt, Adv. Protein Chem. *1*, 25 (1944).
[2] J. Farrant, A. Rees, and E. Mercer, Nature *159*, 535 (1947).

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Über konvexe Extremalkörper

Vor kurzem wurde in dieser Zeitschrift[1] mitgeteilt, daß unter allen Rotationskörpern mit vorgeschriebenem Volumen und Oberfläche die symmetrische Kugelzone das kleinstmögliche Integral der mittlern Krümmung aufweist. Der Beweis dieses für die Theorie der konvexen Körper wichtigen Satzes ist unterdessen publiziert worden[2]. Vom Unterzeichneten konnte weiter gezeigt werden, daß im allgemeinen Fall beliebiger konvexer Körper der obenerwähnte Körper seiner Extremaleigenschaft verlustig geht[3]. Mit Benützung der Variationsrechnung[4], speziell der Theorie der ersten Variation, ist nun folgendes vorläufige Resultat erreicht worden:

Der gesuchte Extremalkörper muß notwendig ein *Kugelkreispolyeder* sein[5]. Seine Oberfläche besteht aus abzählbar unendlich vielen Kreisscheiben. Alle Kanten sind Kreislinien. Er wird aus einer Kugel erzeugt, indem man fortgesetzt Kalotten abschneidet, die sich wohl berühren müssen, aber nicht überschneiden dürfen[6].

H. Bieri

Bern, den 18. Juli 1949.

Summary

The application of the theory of variations on the problem of convex extremal bodies has led to the following result: The extremal body must necessarily be a spherical circular polyhedron. The surface of this body consists of countable infinite many circular disks. All edges are circular lines. The body can be obtained from a sphere by continually cutting of calottes.

[1] H. Hadwiger, P. Glur und H. Bieri, Exper. *4*, 304 (1948).

[2] H. Hadwiger, *Beweis einer Extremaleigenschaft der symmetrischen Kugelzone*, Portugaliae Mathematica *7*, 73 (1948).

[3] Ein Beweis auf der Grundlage numerischer Berechnung ist im «Archiv der Mathematik», Verlag G. Braun, Karlsruhe (Baden), erschienen: *1*, 462 (1949).

[4] Vergleiche die einschlägigen Abschnitte in W. Blaschke: *Vorlesungen über Differentialgeometrie, I*, (3. Aufl., Springer-Verlag, Wien 1930).

[5] Läßt man nachträglich das Volumen im Intervall $0 \leqq V \leqq 4\pi/3$ variieren, so resultiert eine zwischen Kreisscheibe und Kugel interpolierende Schar von Kugelkreispolyedern.

[6] Die Feinstruktur steht noch aus. Es bestehen plausible Vermutungen.

Nebelkammeraufnahmen von Mesonen kleiner Masse

Auf Grund neuerer Untersuchungen auf dem Gebiet der kosmischen Strahlung wird das Vorhandensein eines geladenen Partikels vermutet, dessen Masse in der Größenordnung von $10\,m_e$ (m_e = Elektronenmasse) liegt[1]. Bei einer im Hinblick darauf vorgenommenen Durchmusterung der vor einigen Jahren mit einer horizontal stehenden langsamen Nebelkammer[1] in einer Höhe von 2300 m (Hafelekar bei Innsbruck) erhaltenen 3000 Aufnahmen wurden einige Spuren gefunden, die von Mesonen kleiner Masse herrühren könnten.

Abb. 1 zeigt die Bahn A eines schwach ionisierenden positiv geladenen Teilchens, durch das im Punkte P ein Elektron mit verhältnismäßig großer kinetischer Energie ausgelöst wird[2]. Aus der Aufnahme lassen sich folgende Meßgrößen entnehmen:

1. Der Krümmungsradius von A vor dem Stoß ist nicht meßbar, sein Krümmungsradius ϱ_1 nach dem Stoß wird bei einem Magnetfeld von 1850 Örsted $\pm$ 3% aus

Abb. 1.

der Tangentenkurve[3] zu 24,6 cm $\pm$ 22% Meßfehler ermittelt. Die Verfälschung der Krümmung infolge Coulombstreuung ergibt nach Bethe[4] einen zusätzlichen Fehler von höchstens 13%, wenn man eine Teilchenmasse von maximal $30\,m_e$ (s. u.) zugrunde legt. Der Impuls von A wird demnach $4{,}55 \cdot 10^4$ Örsted·cm $\pm$ 38%.

2. Der Krümmungsradius ϱ_2 des ausgelösten Elektrons B beträgt 1,44 cm $\pm$ 2% mittleren Meßfehler (ermittelt aus der Projektion des Stereobildes). Der Streufehler beträgt 6%, also insgesamt 8% Fehler. Der Impuls des Elektrons, gemessen in Örsted·cm beträgt $2{,}66 \cdot 10^3 \pm 11\%$.

3. Der Winkel φ zwischen A nach dem Stoß und dem Sekundären (B) ist in der Ebene der beiden Bahnen gut meßbar und beträgt 33° mit einem mittleren Fehler von 5%.

4. Der Winkel φ_1, um den A beim Stoß abgelenkt wird, wurde aus der Tangentenkurve zu 4° $\pm$ 20% ermittelt.

[1] P. Auger, J. Daudin, A. Fréon und R. Maze, C. R. *226*, 169 (1948). – L. Jánossy und C. B. A. McCusker, Nature *163*, 181 (1949).

[1] R. Steinmaurer und J. Rüling, Ber. Akad. Wien IIa *151*, 159 (1942).

[2] Wäre die Bewegungsrichtung des Teilchens A entgegen der Pfeilrichtung, so müßte das Sekundärteilchen etwa im Punkt Q entstanden sein und hätte seiner Krümmungsrichtung zufolge positive Ladung. Bahn C kann daher nicht das Ende oder ein Sekundäres von A sein.

[3] J. Rüling und H. Gheri, Acta physica Austriaca *2*, 335 (1948).

[4] H. A. Bethe, Phys. Rev. *70*, 821 (1946).

5. Das Verhältnis der Ionisation von A und B I_A/I_B kann aus Zahl und Größe der Abstände zwischen den Tröpfchen zu höchstens 1,3 geschätzt werden.

Bei erster Betrachtung würde man A gleichfalls für ein Elektron halten. Aber bei einem Stoß zweier gleicher Partikel müßte bei Zugrundelegung obiger Meßwerte der Winkel φ, berechnet aus Energie- und Impulssatz, nicht wie gemessen 33°, sondern ca. 60° betragen. Da die ersten 5 mm der Bahn des Sekundären schlecht erkennbar sind, wäre es immerhin denkbar, daß die Emission unter einem Winkel von 60° stattfindet, das Teilchen aber am Bahnbeginn gestreut wurde. Die Wahrscheinlichkeit hierzu ist kleiner als 10^{-2}. Es ist daher recht unwahrscheinlich, daß das stoßende Teilchen ein Elektron ist. Aus einem Vergleich der Ionisation beider Partikel kann nicht entschieden werden, ob A ein Elektron im langsam ansteigenden Ionisationsbereich ist oder ein Teilchen etwa der Masse $20\,m_e$.

Wäre hingegen A ein μ-Meson der Masse $200\,m_e$, so müßte den gemessenen Radien zufolge seine Ionisation mindestens 39mal so groß wie die des Sekundären sein. Selbst unter Berücksichtigung des maximalen Streu- und Meßfehlers für die Masse $200\,m_e$ (90%) müßte für die obere Grenze von ϱ_1 (81 cm) die Ionisation von A 5,2mal der des Elektrons sein. Bei dem geschätzten Ionisationsverhältnis hingegen müßte der Radius von A 8,5mal so groß als gemessen, bzw. 2,5mal so groß als der größte infolge Streuung noch wahrscheinliche Radius sein.

Die Masse μ des Teilchens A kann nun aus den Winkeln und Radien auf verschiedene Arten aus Energie und Impulssatz ermittelt werden:

a) Aus Radius ϱ_1, Radius ϱ_2 und dem Winkel φ nach

$$k^2=\left(\frac{\xi\,\eta\cos\varphi}{\sqrt{1+\eta^2-1}}+1\right)^2-\xi^2 \quad k=\frac{\mu}{m_e};\ \xi=\frac{H\varrho_1 e}{m_e c};\ \eta=\frac{H\varrho_2 e}{m_e c}$$

zu $\mu = 32{,}5\,m_e$. Bei Berücksichtigung der maximalen Fehler ergibt sich eine obere bzw. untere Grenze von 45,6 bzw. $6{,}6\,m_e$.

b) Aus φ_1, ϱ_2 und $\varphi_2 = (\varphi - \varphi_1)$ nach

$$k^2=\left(\eta^2\frac{\sin\varphi_2\cos(\varphi_1+\varphi_2)}{\sin\varphi_1\,(\sqrt{1+\eta^2}-1)}+1\right)^2-\eta^2\frac{\sin^2\varphi_2}{\sin^2\varphi_1}$$

zu $\mu = 13{,}8\,m_e$, mit den Grenzen 17,4 und $8{,}9\,m_e$.

c) Eine Massenbestimmung aus ϱ_1, ϱ_2 und φ_1 ist wegen der großen Fehler dieser Werte nicht möglich. Setzt man jedoch $\cos\varphi_2 = 1$, so erhält man als obere Grenze $\mu_{max} = 42\,m_e \pm$ ca. 50%.

d) Eine Abschätzung der oberen Grenze der Masse ergibt sich auch aus dem Winkel φ_1 allein, gemäß der Beziehung $\sin\varphi_{1max} = 1/k$[1] zu $\mu_{max} = 15\,m_e \pm 20\%$.

Als Mittel aus a) und b) ergibt sich $\mu = 23{,}2\,m_e$.

Abb. 2 zeigt die Bahnen zweier stark ionisierender Teilchen gemeinsamen Ursprungs, die anscheinend durch ein neutrales Teilchen in der Bleiplatte ausgelöst wurden.

An der rechten sind deutlich zwei Abschnitte erkennbar: der obere, stark gekrümmte Teil wurde von einem Elektron negativer Ladung erzeugt. Es ist jedoch unwahrscheinlich, daß der untere, geradlinige Teil ebenfalls von einem Elektron herrührt, denn ein Elektron müßte bei einer Reichweite von 6,9 cm in dem Magnetfeld von 1580 Örsted ± 3% einen Krümmungsradius von 0,6 cm haben. Die Bahn könnte allenfalls durch Vielfachstreuung geradegestreckt worden sein, aber dann müßte ihr Streuradius das 16fache des mittleren berechneten Wertes betragen. Es muß daher angenommen werden, daß die rechte Bahn von einem Teilchen herrührt, dessen Masse größer ist als die eines Elektrons, aber über dessen Natur nichts weiter gesagt werden kann. Die Aussendung des Elektrons kommt möglicherweise durch einen nach 2 cm Weges stattgefundenen Kerneinfang zustande.

Aus der linken Bahn, die von einem positiven Teilchen herrührt, lassen sich folgende Meßgrößen entnehmen:

1. Ihre Länge ist 9,1 cm. Aus der starken Zunahme der Ionisation und der Stöße ist anzunehmen, daß das

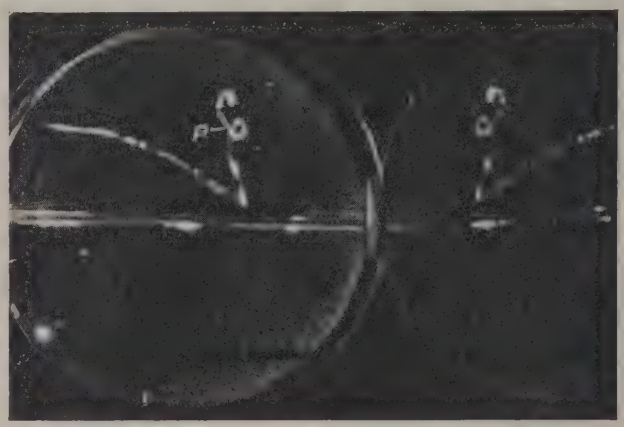


Abb. 2

Teilchen im beleuchteten Teil der Kammer zur Ruhe gekommen ist oder mindestens nur ein kleines Stück im unbeleuchteten Teil weiterlief.

2. Der Krümmungsradius ist längs der ersten $^2/_3$ der Bahn gut meßbar und wurde aus der Tangentenkurve zu 9,3 cm ± 12% ermittelt. Der Streufehler (s. o.) berechnet sich bei Annahme einer Masse von 50 m_e zu etwa 40%.

3. Eine Abschätzung der Ionisation ergibt, daß das Partikel im mittleren Bereich seiner Bahn mindestens ebenso, höchstens aber 4mal so stark wie das Elektron im Punkt P ionisiert.

Das Teilchen kann kein Elektron sein, denn bei der angenommenen Reichweite von 9,1 cm müßte es einen Krümmungsradius von ca. 0,7 cm haben. Andererseits käme ihm bei dem gemessenen Radius eine Reichweite von 1530 cm zu, die aber infolge der starken Ionisationszunahme unmöglich ist. Selbst unter Berücksichtigung eines möglichen Fehlers im Radius von 20% (ϱ = 7,4 cm) ergäbe sich eine Reichweite von 1200 cm.

Eine Masse von $200\,m_e$ oder $300\,m_e$ ist mit der vorgegebenen Reichweite und Ionisation ebenfalls nicht vereinbar. Einerseits müßte bei einer Reichweite von 9,1 cm die Ionisation in der Bahnmitte mindestens 10mal so stark sein als die des Elektrons im Punkte P. Andererseits müßte bei Zugrundelegung des beobachteten Ionisationsverhältnisses die Reichweite für eine Masse $200\,m_e$ mindestens 30 cm betragen, wogegen aber wieder die starke Ionisationszunahme spricht, die für $200\,m_e$ und 30 cm Reichweite unter 4,5% liegen müßte und unbeobachtbar wäre.

Die Masse des Partikels läßt sich aus obigen Angaben auf drei verschiedene Arten ermitteln: a) aus Reichweite R und Ionisationsverhältnis I_μ/I_e, b) aus Ioni-

[1] L. Jánossy, *Cosmic Rays*, p. 84 (Oxford 1948).

sationsverhältnis und Krümmungsradius ϱ und c) aus Reichweite und Krümmungsradius.

Mit $R = 9{,}1$ cm, $I_\mu/I_e = 4$ und $\varrho = 9{,}3$ cm folgt für die Masse aus a) 30 m_e, aus b) 44,7 m_e und aus c 55) m_e. Für ein kleineres I_μ/I_e erhält man eine kleinere, für ein größeres R aus a) eine größere, aus c) eine kleinere Masse. Berücksichtigt man bei ϱ die Meß- und Streufehler (zusammen 54% für eine Masse 50 m_e), so erhält man als Extremwerte aus c) 28,6 m_e und 150 m_e. Letzterer hoher Wert ist jedoch mit der Ionisationsänderung unverträglich, deren Verlauf für verschiedene Massen gegen das Ende ihrer Reichweite leicht berechnet werden kann.

Aus obigen Überlegungen geht wohl sicher hervor, daß es sich bei den untersuchten Partikeln um Teilchen mit einer Masse kleiner als 70 m_e handelt. Die Masse eines von COWAN[1] untersuchten Partikels (11,4 m_e, jedenfalls < 30 m_e) ist von derselben Größenordnung.

(Frl.) J. RÜLING und RUDOLF STEINMAURER

Physikalisches Institut der Universität Innsbruck, den 28. Mai 1949.

Summary

From a series of pictures obtained with a slow cloud chamber at 2300 m above sea level (Hafelekar near Innsbruck) two tracks are discussed. Considering all the possibilities of error, they must be due to particles with masses less than 70 m_e.

[1] E. W. COWAN, Science *108*, 534 (1948).

On Magnetic Behaviour of Some Carcinogenic Substances

The "electronic theory" of carcinogenesis is gaining more and more evidence, at least as far as aromatic hydrocarbons and related substances are concerned. The existence of a relation between the electronic configuration and carcinogenic activity of organic molecules was suggested by O. SCHMIDT[1] and since then has been confirmed by A. and B. PULLMAN[2], who however recognized that the quantum mechanical methods adopted by SCHMIDT were insufficient and devised new methods in order to verify the proposed relation. R. DAUDEL and A. PULLMAN[1] have shown in many carcinogenic hydrocarbons the existence of a highly charged *K region*, situated at the mesophenanthrene bond; and a "K-region hypothesis" was published and developed by A. PULLMAN[2]. The benzene ring according to the resonance theory is supposed to be *a hybrid* of different structures, Kekulé forms as well as Dewar forms; now, summing the charges required for each of these structures, PULLMAN was able to draw a molecular diagram showing the distribution of π electrons (B electrons of O. SCHMIDT). Such calculations were extended to many aromatic hydrocarbons; and of late A. and B. PULLMAN (l. c. 1948) tried to include in their hypothesis other cancerogenic compounds (aminostilbenes, azocompounds). For recent conceptions on the mode of action of cancerogenic hydrocarbons we may refer to the article of G. M. BADGER[3].

Now further progress on such line of research may be made by studying some physical properties that are known to be strictly dependent upon electronic structure. An important one of such properties is the behaviour in a magnetic field: the *diamagnetism*, which is a common feature of all bodies, according to LANGEVIN's theory, is related to the electronic orbits in atoms. The researches of A. PACAULT[4] represent an important development of magnetochemistry on this point: he compared the experimental values of magnetic susceptibility (χ) with the values that can be calculated on the ground of Kekulé bonds as well as of abnormal bonds (Dewar) and came to the conclusion that every experimental value of χ is comprised between the theoretical values.

We give here an account of some researches on the magnetic susceptibility of some aromatic hydrocarbons and of a few other compounds. A further development of such researches will be set forth by one of us, G. MAYR, while E. GALLICO[5] will give a review of the general magneto chemistry of hydrocarbons.

The measures of χ were made in a inhomogeneous field with a magnetic pendulum of the type WEISS-FOEX, modified by G. MAYR[6]; all measures were related to water χ ($0{\cdot}72 \cdot 10^{-6}$); control experiments with water, bismuth, mercury were also made. Temp.: 20°–22°. The values of χ mol. were derived according to the classical

[1] O. SCHMIDT, Z. physik. Chem. *39*, 59 (1938); *42*, 83 (1939); *44*, 185 (1939); *44*, 193 (1949); Ber. Chem. Ges. *73*, 97 (1940); Naturwissenschaften *29*, 146 (1941); Tumori *27*, 475 (1941).

[2] A. and B. PULLMAN, Exper. *2*, 364 (1946); Unio intern. c. cancrum, acta *6*, 57 (1948).

[1] R. DAUDEL and A. PULLMAN, C. R. Acad. Sci. *222*, 663 (1946).

[2] A. PULLMAN, Ann. Chimie *2*, 1 (1947).

[3] G. M. BADGER, Brit. J. Cancer *2*, 309 (1948).

[4] A. PACAULT, C. R. Acad. Sci. *219*, 158 (1944).

[5] E. GALLICO, Tumori (1949), in the press.

[6] G. MAYR, Rendic. Ist. Lomb. Sci. Lett. *78*, 459 (1945).

Magnetic susceptibility (χ)

Substances	$\chi \cdot 10^6$ Calculated values	$\chi \cdot 10^6$ Found values	No. of measures	Biological function
Methylcholanthrene	–0·75	–0·68 ± 0·04	48	Cancerogenic
3,4-Benzpyrene	–0·73	–0·59 ± 0·06	36	Cancerogenic
Acenaphthanthracene	–0·73	–0·73 ± 0·03	48	Non-cancerogenic or Slowly cancerogenic
Acetylaminofluorene	–0·66	–0·63 ± 0·02	48	Cancerogenic
Perylene	–0·68	–0·69 ± 0·03	42	Non-cancerogenic
1,2,5,6-Dibenzofluorene	–0·73	–0·69 ± 0·03	42	Cancerogenic
3,4,5,6-Dibenzphenanthrene	–0·72	–0·73 ± 0·03	48	Non-cancerogenic
o-Aminoazotoluene	–0·64	–0·61 ± 0·02	36	Cancerogenic

formulæ and to the data of W. Klemm[1]. The calculations of χ from the admitted *normal* electronic distribution were also repeated according to Pacault. The two sets of results, those experimentally found, and those which were calculated on the assumption of a *normal* electronic structure, were compared (s. Table).

Whereas non-cancerogenic compounds (acenaphthanthracene, perhaps endowed with a slight activity; perylene; 3,4,5,6-dibenzphenanthrene) show a fair coincidence of the two values, in the case of carcinogenic substances the experimental value of the susceptibility remains more or less below the calculated one. This difference is most striking for benzpyrene, less for methylcholanthrene, still less for the other substances, which are all carcinogenic, although not so much as the two named above. This behaviour of χ in carcinogenic substances may express the abnormal distribution of electrons, brought about, e.g. by electron-attracting or electron-repelling substituents, with formation of active, highly charged centres in the molecule, very apt to react with cell constituents. The amount of the difference may be related with number of electron couples which fail to give a contribution to the diamagnetism (s. further researches of *Mayr*) and with the statistical distribution of different structural types in the molecule entering into contact with the living matter.

P. Rondoni, G. Mayr, and E. Gallico

Laboratory of Experimental Pathology (Centro di Patologia cellulare) and Laboratory of Physics, University of Milan, June 3, 1949.

Riassunto

La «teoria elettronica» di O. Schmidt, modificata e corretta dai lavori successivi di A. e B. Pullman, di Pacault, ecc., tende ad ammettere che una particolare concentrazione di elettroni (π elettroni) in certi punti della molecola spieghi la funzione cancerogena di idrocarburi ed altri composti organici. È stata studiata ora la suscettibilità magnetica (χ) di alcune sostanze (diamagnetismo); e si è trovato che mentre 3 idrocarburi non cancerogeni presentano una suscettibilità il cui valore sperimentale coincide assai precisamente con quello calcolato secondo Pacault in base alla ammissione di una *normale* distribuzione elettronica, le 5 sostanze cancerogene sperimentate presentano valori sperimentali che restano nettamente sotto ai calcolati. Quest'ultimo reperto è interpretato come una deviazione dalla normale distribuzione elettronica, portante al predominio nella molecola di tipi strutturali con addensamenti e rarefazioni anormali della nuvola elettronica e costituzione di centri *attivi*.

[1] W. Klemm, *Magnetochemie* (Akad. Verlagsgesellschaft Leipzig 1936).

Azione potenzializzante reciproca del 2,4-diclorofenossiacetato sodico, dell'o-isopropil-*N*-fenilcarbamato e del 2,4-dinitro-o-cresolato sodico

L'interazione potenzializzante (sinergica) di varie sostanze sull'acido 2,4-diclorofenossiacetico, nonché i sali e gli esteri, è stata precedentemente indagata. Partiti dalla constatazione dell'effetto attivante del bagnante-emulsionante Tween N. 20 su detto acido (Zimmerman e coll.[1]), l'indagine fu estesa quindi ad altri agenti bagnanti, solubilizzanti, emulsionanti, collanti, penetranti, ecc., ma anche a sostanze di diversa natura chimica, quali solfamato ammonico, maleato di diallile, bicarbonato e cloruro di sodio (Hitchcock e coll.[2]), nonché ad acido naftalenacetico (Hitchcock e coll.[3]). La grande aspecificità di dette sostanze attivanti fu confermata da Hammer e coll.[4] mediante la miscelazione col latice di una resina sintetica disperdibile in acqua (Geon 31X).

Poiché la quasi totalità degli studi vertono sulla potenzializzazione dell'acido 2,4-diclorofenossiacetico e derivati, abbiamo creduto interessante, anche agli effetti pratici, indagare preliminarmente l'azione sinergica reciproca del sale sodico dell'acido 2,4-diclorofenossiacetico (2,4-DNa; sale puro sotto forma di campione di laboratorio), dell'*o*-isopropil-*N*-fenil-carbamato (indicato come IFC; campione tecnico di origine americana), e del sale sodico del dinitro-*o*-cresolo (indicato come DNOCNa; prodotto tecnico di origine svizzera) (2,4-dinitro-*6*-metilfenolo).

All'uopo si prepararono due serie di soluzioni di ognuno di tali composti, rispettivamente a 1000 p.p.m. e 10 p.p.m., sciogliendo in acqua di fonte il 2,4-DNa e il DNOCNa, e in una soluzione di alcool isopropilico ed acqua (2:5) l'IFC; in ogni caso, alla soluzione si aggiunse un bagnante («Euplinol» Caffaro, butossidifenil-sulfonato sodico all'85 per cento), alla dose dello 0,667 per cento.

I saggi si effettuarono su germinelli di pomodoro (*Lycopersicum esculentum*), razza «San Marzano» e su germinelli di frumento (*Triticum vulgare*), razza «Villa Glori». Queste due specie-teste furono scelte in quanto si riteneva[5], che l'IFC non fosse attivo sul pomodoro, mentre lo è sul frumento, quando per il frumento e il 2,4-DNa avviene l'opposto. È noto che il DNOCNa è attivo su entrambe le specie, sia pure in diverso grado a pari concentrazione.

Le plantule da seme furono fatte crescere in sabbia bagnata con acqua, in serra, a circa 17–20° C; poi irrorate con soluzione nutritizia di Shive diluita a metà con acqua. Quando avevano raggiunto l'altezza di 12 a 15 cm, le plantule furono delicatamente estratte dalla sabbia in cui erano coltivate, e quindi le foglie con i picciuoli e la parte superiore dei fusticini immerse rapidamente nelle soluzioni ad azione fitotossica, in maniera che le radici e la parte inferiore dei fusti non ne venisse bagnata. Le piantine venivano liberate dall'eccedente delle suddette soluzioni scuotendole bruscamente con un colpo secco della mano, e quindi individualmente trasferite in tubi d'assaggio ripieni della soluzione di Shive non diluita. Le piantine così trattate erano lasciate vegetare all'aperto, in pieno sole.

A misura del potere fitotossico fu preso il numero dei giorni intercorrenti tra quello del trattamento e la morte, considerando come morte le plantule che avevano tutte le foglie e il fusticino avvizziti, e non oltre i dieci giorni dal trattamento; ciò in analogia con quanto avevano fatto Hitchcock e Zimmerman[6]. Per ogni prova si impiegarono 5 germinelli della stessa età e di sviluppo eguale; alcune prove, accidentalmente non riuscite, fu-

[1] P. V. Zimmerman e A. E. Hitchcock, Contr. Boyce Thompson Inst. *9*, 299 (1938).

[2] A. E. Hitchcock e P. V. Zimmerman, ib. *15*, 173 (1948).

[3] A. E. Hitchcock e P. V. Zimmerman, ib. *14*, 471 (1947).

[4] C. L. Hamner e Kiang Chi-Kien, Science *107*, 572 (1948).

[5] W. B. Ennis, Amer. J. Bot. *35*, 15 (1948). Bot. Gaz. *109*, 473 (1948). – R. W. Allard, W. B. Ennis, H. R. de Rose e R. I. Weaver, Bot. Gaz. *107*, 589 (1946).

[6] A. E. Hitchcock e P. V. Zimmerman, ib. *15*, 173 (1948).

rono ripetute una seconda volta sotto condizione analoga.

Nella tabella seguente sono riassunti i risultati ottenuti:

Soluzioni di	Numero medio di giorni	
	Frumento	Pomodoro
2,4-DNa 10 p.p.m.	—	—
2,4-DNa 1000 p.p.m.	—	8,2
IFC 10 p.p.m.	—	—
IFC 1000 p.p.m.	7,4	9,0
DNOCNa 10 p.p.m.	—	—
DNOCNa 1000 p.p.m.	— (10)	— (10)
2,4-DNa 10 p.p.m. + IFC 1000 p.p.m.	6,2	8,8
2,4-DNa 10 p.p.m. + DNOCNa 1000 p.p.m.	7,4	6,0
IFC 10 p.p.m. + 2,4-DNa 1000 p.p.m.	— (10)	7,8
IFC 10 p.p.m. + DNOCNa 1000 p.p.m.	7,6	5,6
DNOCNa 10 p.p.m. + IFC 1000 p.p.m.	5,2	7,0
DNOCNa 10 p.p.m. + 2,4-DNa 1000 p.p.m.	9,2	4,8
2,4-DNa 10 p.p.m. + IFC 10 p.p.m. + DNOCNa 1000 p.p.m.	6,6	5,6
2,4-DNa 10 p.p.m. + DNOCNa 10 p.p.m. + IFC 1000 p.p.m.	4,6	6,0
IFC 10 p.p.m. + DNOCNa 10 p.p.m. + 2,4-DNa 1000 p.p.m.	7,4	5,6
Soluzione di Shive + 1 per cento Euplinol	—	—

Pur con la riserva che questa esperienza hanno solo un valore orientativo e preliminare, sembra logico dedurne che:

1° I tre composti hanno un'azione reciprocamente potenzializzante, sia pure in varie misure.

2° La maggiore azione sinergica si ha aggiungendo la piccola quantità di DNOCNa all'IFC per il frumento, e al 2,4-DNa per il pomodoro, nelle miscele binarie. L'attivazione è minore se a DNOCNa vengono aggiunte piccole quantità sia di 2,4-DNa che di IFC. Tale potenzializzazione reciproca può interpretarsi in base alla diversa natura del meccanismo di azione dei tre composti.

3° Nelle miscele ternarie l'attivazione è maggiore che in quelle binarie, essendo massima per l'IFC con piccole quantità di DNOCNa + 2,4-DNa rispetto al frumento, Per il pomodoro l'attivazione è all'incirca eguale per il DNOCNa + piccole dosi degli altri due composti, e per il 2,4-DNa + piccole dosi degli altri due composti.

4° È possibile che l'esaltato effetto potenzializzante del DNOCNa si debba a modificazioni della permeabilità cellulare sulle foglie delle piante trattate, che faciliti l'assorbimento degli altri composti.

5° Queste conclusioni incoraggiano la prosecuzione delle prove in merito alla miscelazione dei diversi composti erbicidi oggi noti, in proporzioni diverse, adattandole a specifici scopi di lotta contro flore di piante messicole in cui dominino certe specie o gruppi di specie.

R. Ciferri e F. Bertossi

Istituto Botanico e Laboratorio Crittogamico, Università di Pavia, Italia, il 6 aprile 1949.

Summary

When 10 p.p.m. and 1,000 p.p.m. of the sodium salts of 2,4-D (2,4-DNa) and DNOC (DNOCNa) and of *o*-isopropyl-*N*-phenyl carbamate (IFC) are mixed together in binary and ternary combinations, a potentializing (synergistic) effect on wheat and tomato seedlings is observed, judged by the number of days elapsing from treatment to complete wilting. Both in binary and ternary combinations the greatest effect has been ascertained from the interaction of low concentrations of DNOCNa on 2,4-DNa (on tomatoes) and on IFC (on wheat). The practical importance of these preliminary results is briefly sketched.

Über die Frequenzabhängigkeit reversibler Änderungen der Cochlearpotentiale bei temporärer Anoxie

Weder der Ursprung noch die funktionelle Bedeutung des sogenannten Wever-Bray-Effekts, dieser vom Aktionspotential des Nerven grundsätzlich verschiedenen bioelektrischen Erscheinung, sind geklärt. Bekanntlich sind die Cochlearpotentiale (CP) durch lokale Schädigungen verschiedener Art beeinflußbar (Walzl und Bordley[1], Juul und Vraa-Jensen[2] u. a.), sie können aber auch durch irreversible Schädigung des Gesamtorganismus zum Schwinden gebracht werden, wobei die Abnahme der Potentialgröße bei verschiedenen Todesarten der Versuchstiere verschieden rasch erfolgt (Wever, Bray und Lawrence[3]). Von Bornschein und Krejci[4] wurde festgestellt, daß bei temporärer Anoxie ein Potentialverlust eintritt, der dem raschen Abfall bei Eintritt des Todes entspricht, sich aber durch sein vollkommen reversibles Verhalten von diesem unterscheidet. Die relative Abnahme der Potentialgröße erwies sich dabei als unabhängig von der Intensität des Schallreizes, was in einer entsprechenden Parallelverschiebung der Gradationskurve (Lautstärke in Dezibel gegen Potentialgröße in Dezibel aufgetragen) zum Ausdruck kam. Diese Abnahme betrug in 23 Versuchen an narkotisierten Meerschweinchen 10 bis 18 db, wobei also die Charakteristik der Gradationskurve, insbesondere der sogenannte Kompressionseffekt bei größeren Reizintensitäten, völlig erhalten blieb. Zweck vorliegender Untersuchung war die Klärung der Frage, ob die relative Abnahme der CP bei Anoxie von der Frequenz des Schallreizes abhängig sei.

Es wurden die CP narkotisierter Meerschweinchen (1,5 g/kg Urethan) untersucht, die Ableitung und die Verstärkung der Potentiale erfolgte wie in den obenerwähnten Untersuchungen (3 Elektroden, Vorverstärker mit Doppelrohr EFF 50 in Kompensationsschaltung, Kathodenstrahloszillograph; Erzeugung der Reizfrequenz durch Schwebungssummer mit frequenzunabhängiger Amplitude). Vor, während und nach einer durch Zufuhr von Luft-N_2-Gemisch erzeugten Anoxie des Versuchstieres wurde je ein Elektrocochleogramm aufgenommen, indem während gleichmäßiger Steigerung der Reizfrequenz von 1000 auf 10000 Hz unter gleichzeitiger Markierung der Frequenzstufen die Größe der CP photokymographisch registriert wurde. Die Differenz dieser Kurven wurde für den Frequenzbereich der mit ausreichender Genauigkeit meßbaren Potentiale in üblicher Weise in Dezibel berechnet.

In 7 Versuchen konnte keine Frequenzabhängigkeit der relativen Potentialverluste bei Anoxie nachgewiesen

[1] E. M. Walzl und J. E. Bordley, Amer. J. Physiol. *135*, 351 (1942).

[2] A. Juul und G. Vraa-Jensen, Acta pharmac. et toxicol. *3*, 51 (1947).

[3] E. G. Wever, C. E. Bray und M. Lawrence, Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. *50*, 317 (1941).

[4] H. Bornschein und F. Krejci, Mschr. Ohrenheilk. *82*, 190 (1949).

werden. Die Abnahme innerhalb des Frequenzbereiches deutlich meßbarer Ausschläge betrug 6 bis 10 db und war in jedem Versuch für alle gemessenen Frequenzen praktisch konstant. Nach Erholung durch O_2-Zusatz zur Atemluft wurde bei allen Frequenzen rasch die ursprüngliche Größe der CP erreicht (Abb. 1). Ein Tier wurde vor dem Anoxieversuch einem akustischen Trauma (7 Pistolenschüsse, Kaliber 7,65 mm) ausgesetzt, das zu einer typischen Veränderung im Elektrocochleogramm führte (Krejci[1]). Die folgende Anoxie wirkte hier rein additiv, so daß die Kurve der relativen Potentialdifferenzen eine einfache Parallelverschiebung um etwa 6 db zeigte (Abb. 2).

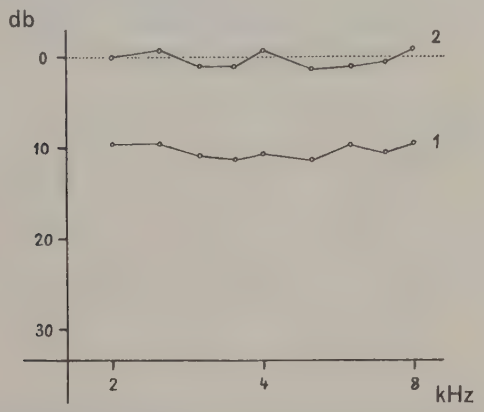


Abb. 1. Wirkung von Anoxie und Erholung auf die Größe der CP bei verschiedenen Reizfrequenzen; normales Versuchstier (M 70).
Abszisse: Reizfrequenz (in kHz),
Ordinate: Potentialverlust (in Dezibel),
1 während Anoxie,
2 nach Erholung von Anoxie.

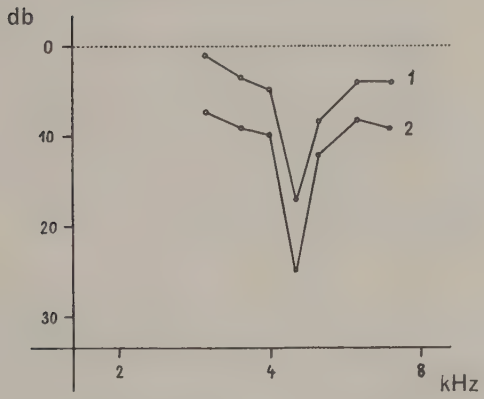


Abb. 2. Anoxiewirkung bei akustisch geschädigtem Versuchstier (M 73).
1 nach Knalltrauma,
2 nach zusätzlicher Anoxie.

Die relative Abnahme der CP bei Anoxie ist also nicht nur, wie in früheren Untersuchungen festgestellt wurde, von der Reizintensität, sondern offenbar ebenso von der Reizfrequenz unabhängig. Inwieweit als Ursache dieser unspezifischen Funktionsminderung sekundäre Kreislaufwirkungen der Anoxie in Frage kommen, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

H. Bornschein und F. Krejci

Physiologisches Institut der Universität Wien und I. Universitätsklinik für Ohren-, Nasen- und Kehlkopfkrankheiten Wien, den 23. Mai 1949.

[1] F. Krejci, Wien. Otolog. Ges. Sitzg. v. 8. 2. 1949.

Summary

Seven experiments were carried out on guinea-pigs. The results obtained showed that the depression of the cochlear potential under anoxia was not only independent of the intensity, which was already proved by previous experiments, but also of the frequency of the stimuli.

Über den Einfluß von Oxytocin und Vasopressin auf die Ausscheidung von Kalium und Natrium durch die Niere

Die wassereinsparende Wirkung des Vasopressins durch erhöhte tubuläre Wasserrückresorption ist eine allgemein anerkannte Tatsache. Durch die Arbeiten von Fraser[1] sowie Kuschinsky c. s.[2] ist ferner festgestellt worden, daß durch Oxytocin die Cl-Ausscheidung erhöht und die Harnmenge unter Umständen vermehrt wird. Eigene Untersuchungen[3] erweiterten die letzteren Befunde dahin, daß Oxytocin in erster Linie die Natriumausscheidung begünstigt und daß zwischen dem Oxytocin und dem Quecksilberdiuretikum Salyrgan in dieser Hinsicht eine wechselseitige Potenzierung besteht.

In Erweiterung dieser Befunde wurde vergleichsweise die Wirkung von Oxytocin und Vasopressin auf die Ausscheidung von Kalium und Natrium im akuten Diuresversuch an Ratten untersucht.

Männliche Ratten von durchschnittlich 150 g. Zu Beginn des Versuchs 5 cm³ Wasser/100 g *per os* und 0,04 E/100 g Oxytocin bzw. Vasopressin s. c. Na-arme Ernährung: normales Körnermischfutter, Na-reiche Ernährung: Keks mit ca. 1% NaCl. 18 Stunden vor Versuchsbeginn Nahrungsentzug, Wasser *ad libitum* bis zum Versuchsbeginn. Die vier- bzw. achtstündigen Versuche sind getrennte Versuchsserien. Die angegebenen Mengen sind für eine Gruppe von je 6 Ratten berechnet.

Tabelle I

	cm³ Millimole						
	Harn	Cl	Na	K	Na/K	Cl-Defizit	Tierzahl
Na-arme Ernährung, Versuchsdauer 4 Stdn.							
Kontrollen	18,3	—	0,044	0,47	0,094	—	36
Oxytocin	22,4	—	0,22	1,17	0,19	—	36
Vasopressin	11,6	—	0,0035	1,15	0,003	—	36
Oxyt./Kontr.	1,22	—	5,0	2,5	2,0		
Vasopr./Kontr.	0,635	—	0,08	2,45	0,032		
Oxyt./Vasopr.	1,93	—	63,0	1,02	63,0		
Na-arme Ernährung, Versuchsdauer 8 Stdn.							
Kontrollen	16,2	0,163	0,063	0,50	0,125	0,400	12
Oxytocin	27,1	0,870	0,58	1,03	0,565	0,740	24
Vasopressin	16,4	0,44	0,036	1,52	0,024	1,116	18
Oxyt./Kontr.	1,67	5,35	9,2	2,06	4,5	1,85	
Vasopr./Kontr.	1,01	2,7	0,57	3,04	0,192	2,79	
Oxyt./Vasopr.	1,65	1,98	16,1	0,68	23,5	0,66	

Wie Tab. I und II zeigen, haben diese beiden Teilfraktionen aus dem Hinterlappen der Hypophyse in dieser Beziehung einander entgegengesetzte Wirkungen.

Oxytocin steigert gegenüber unbehandelten Kontrolltieren die Natriumausscheidung um ein Vielfaches, während die Kaliumausscheidung nur geringfügig er-

[1] A. M. Fraser, J. Pharmacol. Exp. Therap. *60*, 89 (1937).
[2] G. Kuschinsky und H. E. Bundschuh, Klin. Wschr. *18*, 207 (1939); Arch. exp. Path. Pharm. *192*, 683 (1939).
[3] O. Schaumann, Arch. exp. Path. Pharm. *205*, 367 (1948).

Tabelle II

	cm³ Millimole				
	Harn	Na	K	Na/K	Tierzahl
Na-reiche Ernährung, Versuchsdauer 4 Stdn.					
Kontrollen	20,5	0,93	0,57	1,65	24
Oxytocin	44,8	3,7	0,9	4,1	24
Vasopressin	9,8	0,55	0,82	0,68	24
Oxyt./Kontr.	2,18	4,0	1,58	2,7	
Vasopr./Kontr.	0,48	0,59	1,44	0,41	
Oxyt./Vasop.	4,6	6,7	1,1	6,0	
Na-reiche Ernährung, Versuchsdauer 8 Stdn.					
Kontrollen	38,1	0,97	1,1	0,92	24
Oxytocin	51,6	2,94	1,0	2,94	24
Vasopressin	25,1	0,57	1,2	0,47	24
Oxyt./Kontr.	1,35	3,0	0,91	3,2	
Vasopr./Kontr.	0,66	0,59	1,1	0,51	
Oxyt./Vasopr.	2,0	5,2	0,84	6,3	

höht wird. Die Diuresesteigerung bleibt hinter der Vermehrung der Natriumionen im Harn zurück.

Durch *Vasopressin* wird die Natriumausscheidung über die Diuresehemmung hinausgehend auf einen Bruchteil der Norm herabgedrückt, dagegen die ausgeschiedene Kaliummenge trotz der Diuresehemmung erhöht.

Durch diese gegensinnigen Wirkungen der beiden Teilfraktionen wird im Harn der Na/K-Quotient weitgehend verändert: durch Oxytocin auf das Drei- bis Vierfache erhöht, durch Vasopressin bis auf $^1/_{30}$ erniedrigt.

Die Ausscheidung der Chlorionen wird sowohl durch Oxytocin wie auch durch Vasopressin erhöht, bleibt aber gegenüber der Summe von Natrium + Kalium zurück, so daß das Chlordefizit zunimmt.

Oxytocin wirkt also in erster Linie Na-ausschwemmend mit sekundärer Erhöhung der Wasserdiurese, Vasopressin natrium- und wassersparend bei Erhöhung der K-Ausscheidung.

Die Wirkungen auf den Chlor- und Wasserhaushalt dürften wohl sekundäre Folgen einer primären Wirkung auf die Ausscheidung der Na- und K-Ionen sein.

O. Schaumann

Pharmakognostisches Institut der Universität Innsbruck, den 11. Mai 1949.

Summary

In decisive experiments on diuresis with rats it is shown that oxytocin and vasopressin have a contrary effect on the excretion of Na and K. Oxytocin increases the excretion of Na, vasopressin decreases the excretion of Na and raises the excretion of K. The effects on Cl- and water-metabolism may be considered only as consequences of the primary effect on Na and K.

Über die Wirkung von Pyribenzamin und anderen Antihistaminika auf die durch Histaminverabreichung erzeugten Magenulzera

Um bei Kleintieren innerhalb nützlicher Zeit Ulzerationen der Magenschleimhaut zu erzeugen, hat sich uns die von B. N. Halpern[1] angegebene Methode der Histaminulzera an Meerschweinchen bewährt. Sie kann als Testmethode zur Bestimmung antiulzeröser Wirksamkeit Verwendung finden.

10 Meerschweinchen, 16 Stunden hungernd, erhalten s.c. 2,0 mg Antistin, 20 Minuten später eine bestimmte Dosis der zu prüfenden Substanz (Vollversuch) oder die gleiche Menge Lösungsmittel (Kontrollversuch) und nach weiteren 10 Minuten 4 mg Histamin (-biphosphat) s.c.

Als zahlenmäßigen Ausdruck des Ulkusbefalls nach 24 Stunden, wählten wir die aus der Gesamtzahl der Magenulzera aller 10 Tiere berechnete *mittlere Ulkuszahl pro Tier*. Diese erwies sich bei den Kontrollversuchen als relativ konstant und beträgt $7{,}6 \pm 0{,}5$ Ulzerationen/Tier, berechnet aus je 10 unserer Kontrollversuchsserien.

Als *ulkusverhütenden* oder *antiulzerösen Effekt* bezeichnen wir die prozentuale Verminderung der mittleren Ulkuszahl/Tier der Versuchsserie, bezogen auf die der gleichzeitig mitlaufenden Kontrollserie.

Die von uns untersuchten Antihistaminika

1. *N*,*N*-Dimethyl-*N*′-benzyl-*N*′-(α-pyridyl)-äthylendiamin-monohydrochlorid (= Pyribenzamin),
2. *N*,*N*-Dimethyl-*N*′-phenyl-*N*′-(α-thenyl)-äthylendiamin-monohydrochlorid,
3. *N*,*N*-Dimethyl-*N*′-(α-pyridyl)-*N*′-(α-thenyl)-äthylendiamin-monohydrochlorid,
4. *N*,*N*-Dimethyl-*N*′-*p*-methoxybenzyl-*N*′-(α-pyridyl)-äthylendiamin-maleat,
5. (*N*,*N*-Dimethyl-aminoäthyl)-10-phenothiazin-monohydrochlorid,
6. 2-(*N*-Phenyl-*N*-benzyl-amino-methyl)-imidazolin-monohydrochlorid

erwiesen sich – peroral verabreicht – als antiulzerös wirksam. Dosiswirkungsversuche (Abb. 1) ergaben, daß

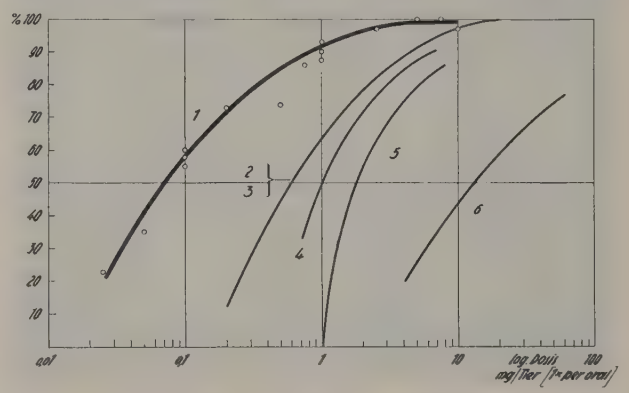


Abb. 1. *Prozentuale Verminderung der mittleren Ulkuszahl/Tier* (Ordinate) *durch verschiedene Antihistaminika* nach einmaliger Verabreichung in verschiedenen Dosen (Abszisse). Bezeichnung der Antihistaminika, s. Text.

Pyribenzamin weitaus am wirksamsten ist; 1 mg, einmal *per os* einem Meerschweinchen verabreicht, genügt, um die Ulkusbildung durch 4 mg Histamin zu 90% zu verhindern (Abb. 2). Den übrigen untersuchten Antihistaminika kommt eine geringere, in obiger Reihenfolge abnehmende Wirksamkeit zu, die sich am besten durch die Dosis zum Ausdruck bringen läßt, die nötig ist, um die Zahl der Ulzera auf die Hälfte zu vermindern. Dazu bedarf es

von		einmal *per os* mg
Pyribenzamin	Nr. 1	0,07
Antihistaminikum	Nr. 2	0,5–0,7
Antihistaminikum	Nr. 3	0,5–0,7
Antihistaminikum	Nr. 4	ca. 1,0
Antihistaminikum	Nr. 5	ca. 2,0
Antihistaminikum	Nr. 6	ca. 10

[1] B. N. Halpern, C. R. Soc. Biol. *140*, 361, 363 und 830 (1946).

Der auffallend starken Wirkung von Pyribenzamin bei *peroraler* Verabreichung steht die praktische Wirkungslosigkeit bei *subkutaner* Verabreichung gegenüber (Tabelle).

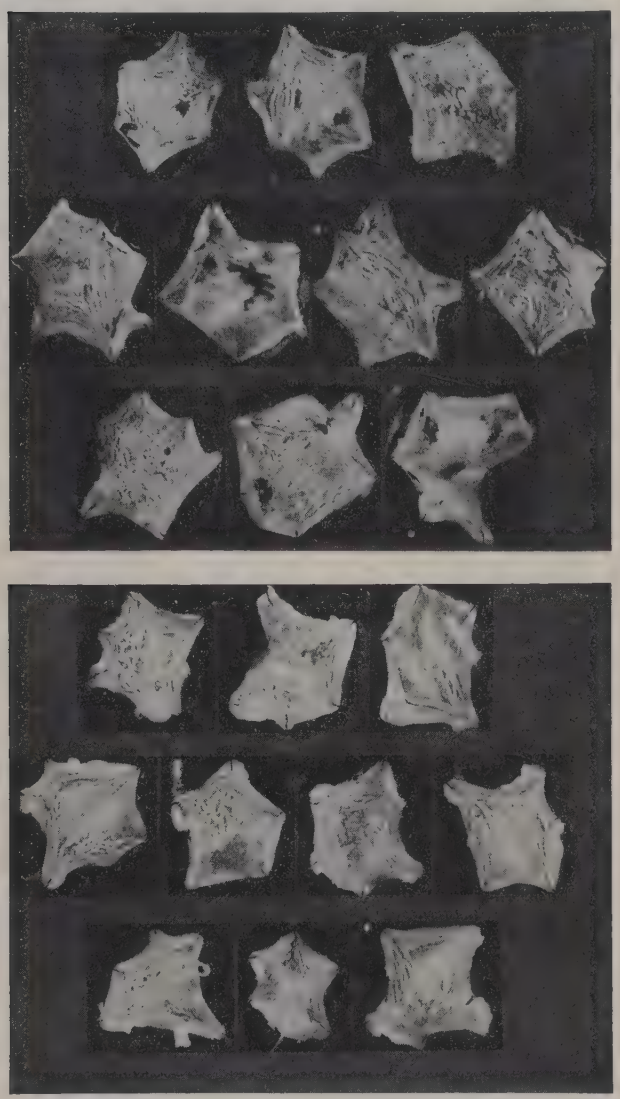


Abb. 2. *Histamin-Magenulkustest am Meerschweinchen.* Magenschleimhautpräparate der Kontrolltiere mit Ulzera (obere Bilder) und der einmal mit 1 mg Pyribenzamin peroral behandelten Versuchstiere (untere Bilder).

Pyribenzamin Dosis einmal mg/Tier	Verminderung der Zahl der Ulzera bei peroraler Verabreichung in %	Verminderung der Zahl der Ulzera bei subkutaner Verabreichung in %
5,0	–100	–13
2,5	–97	
1,0	–91	–13
0,75	–86	
0,5	–74	–16
0,25	–72	
0,1	–60	+15
0,05	–35	± 0
0,025	–23	
0,01	± 0	+19

Da die antiulzeröse Wirkung von Pyribenzamin somit auf perorale Verabreichung beschränkt ist, muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß andere Wirkungskomponenten, z. B. die lokalanästhetische, am Antiulkuseffekt ursächlich beteiligt sein könnten. Der Befund bei peroraler Verabreichung bekannter Lokalanästhetika in gleicher Versuchsanordnung:

Nupercain,
1 mg, einmal *per os*, reduziert die Ulkuszahl/Tier um 27 %

Novocain,
10 mg, einmal *per os*, reduziert die Ulkuszahl/Tier um 19 %,

spricht aber gegen die ursächliche Bedeutung der lokalanästhetischen Wirkungskomponente. W. Schuler

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der CIBA, Aktiengesellschaft, Basel, den 7. Juni 1949.

Summary

Ulcers of the stomac of guinea-pigs, produced by subcutaneous application of histamine, are reduced to a significant degree in number by peroral application of antihistaminics. The effect is corresponding to the given dosage. Pyribenzamin proved to be the most effective.

Zur Frage der Hemmung des Thiouracilkropfes der Ratte

In früheren Untersuchungen an der Ratte konnte die nach Behandlung mit Thiouracil auftretende Hyperplasie der Schilddrüse durch gleichzeitige orale Verabreichung eines Präparates von synthetischem Vitamin-A-Methyläther weitgehend gehemmt werden[1]. In der Folge war Vitamin A in anderer Form (Acetat, Alkohol) unwirksam. Da der Methyläther mit Jod[2], das Acetat bzw. der Alkohol mit Phosphoroxychlorid dargestellt worden war[3], war die Hemmung des Thiouracilkropfes nicht wie vermutet auf eine Wirkung von Vitamin A, sondern auf eine Jodwirkung zurückzuführen. Tatsächlich konnte das im Vitamin A offenbar an das Kohlenstoffgerüst gebundene Jod quantitativ ermittelt werden. Die in 0,5 cm³ einer öligen Lösung von Vitamin-A-Methyläther verabreichte Jodmenge betrug 100 γ/Tier/Tag. Ein auf andere Weise, ohne Jod dargestellter Vitamin-A-Methyläther war unwirksam.

Die an sich plausible Hemmung des Thiouracilkropfes durch Jod konnte zunächst von verschiedenen Autoren nicht gefunden werden[4] oder dann nur in sehr hohen Dosen[5]. Andere Autoren[6,7] fanden mit Jod eine Hemmung der Thiouracilhyperplasie der Schilddrüse. An der Tatsache einer solchen Hemmung ist, wie auch aus den eigenen Versuchen hervorgeht, nicht mehr zu zweifeln. Dagegen gehen die Ansichten über Beziehung zwischen Bindungsart des Jods und Hemmwirkung auseinander. Einerseits wird die stärkere hemmende Wirkung von elementarem Jod im Vergleich zu den Jodiden hervorgehoben[7,8], anderseits für Natriumjodid und für Dijod-

[1] A. Studer, Exper. *4*, 232 (1948).
[2] O. Isler, W. Huber, A. Ronco und M. Kofler, Barell-Festschrift, S. 31 (1946). Exper. *2*, 31 (1946).
[3] O. Isler, A. Ronco, W. Guex, N. C. Hindley, W. Huber, K. Dialer und M. Kofler, Helv. chim. acta *32*, 489 (1949).
[4] E. W. Dempsey und E. B. Astwood, Endocrinology *32*, 509 (1943). – E. B. Astwood, J. Sullivan, A. Bisell und R. Tyslowitz, Endocrinology *32*, 210 (1943).
[5] D. A. McGinty und E. A. Sharp, Endocrinology *39*, 74 (1946).
[6] K. Kjerulf-Jensen, Acta med. Scand. *123*, 511 (1946). – D. P. Sadhu, Amer. J. Physiol. *152*, 150 (1948). – C. G. Mackenzie, Endocrinology *40*, 137 (1947).
[7] S. Dvoskin, Endocrinology *41*, 331 (1947).
[8] S. Dvoskin, Endocrinology *40*, 334 (1947).

tyrosin die gleiche Hemmwirkung gefunden[1]. Es wurde deshalb mittels verschiedener Jodverbindungen versucht, abzuklären, ob der Grad der Bindung des Jodes eine für die Hemmwirkung maßgebende Rolle spielte.

Methodik. Um ein umfassendes Bild zu erhalten, wurde die Wirkung des Methylthiouracils in zwei Richtungen verfolgt. Es wurde versucht, die Hyperplasie der Schilddrüse (indirekte Wirkung des Thiouracils) bzw. die Hemmung der Hyperplasie an Bouin-fixiertem Material histologisch zu erfassen, wobei die Seitenlappen in der Mitte senkrecht zur Längsachse geschnitten wurden. Die Veränderungen wurden in Anlehnung an ASTWOOD[2] mit 1–4 bewertet und mit dem Durchschnittswert von mindestens 8 Schilddrüsen, d. h. 16 histologischen Schnitten, der Entwicklungsgrad des Thiouracilkropfes zahlenmäßig ausgedrückt. Sodann wurde durch quantitative Bestimmung des Jodgehalts der Schilddrüse die durch Thiouracil bewirkte Entjodung (direkte Wirkung des Thiouracils) bzw. die Hemmung der Entjodung festgestellt.

Zur Jodbestimmung bewährte sich das von KENDALL[3] angegebene und von ASTWOOD[4] für Mikrobestimmungen umgearbeitete Verfahren. Es besteht im wesentlichen im alkalischen Aufschluß der sorgfältig freipräparierten Schilddrüse, der Oxydation des Jodions zu Jodation durch Brom und der Titration des freigesetzten Jodes mit 0,001 n Thiosulfat. Es hat sich dabei, wie J. ANTENER feststellte, für die Genauigkeit der Titration die Verwendung von Marantastärke als vorteilhaft erwiesen. Die beim Aufschluß nötigen Salze sind in möglichst niedriger Konzentration anzuwenden, für 250 mg Schilddrüse genügen 1 g NaOH, 10 mg Kaliumnitrat und 50 mg Natriumbisulfit.

Versuch 1. 48 weibliche, 30–40 g schwere Ratten erhielten in Gruppen von 16 Tieren an 7 Tagen 0,05 g/kg Methylthiouracil in 0,1 cm³ wässeriger Suspension *per os*; zwei Gruppen davon zusätzlich 100 µg Jod in 0,05 cm³ Aqua dest. *per os*, die einen in Form von NaJ, die andern in Form von Dijodtyrosin. 12 Ratten wurden als unbehandelte Kontrollen mitgeführt. Am 8. Versuchstag wurden die Tiere getötet, die Schilddrüsen histologisch untersucht und ihr Jodgehalt bestimmt.

Ergebnis (s. Tabelle 1). Nach siebentägiger Behandlung mit 0,05 g/kg Methylthiouracil beträgt der histologisch erfaßte Entwicklungsgrad des Kropfes bei den nur mit Thiouracil behandelten Tieren 3,0, bei den zusätzlich mit NaJ bzw. Dijodtyrosin behandelten Tieren 2,1 bzw. 2,25. Die Hemmwirkung von Dijodtyrosin ist somit nur ganz wenig geringer als die von NaJ. Die Entjodung, die in der Thiouracilgruppe bis 6 mg% fortgeschritten ist, wurde sowohl durch NaJ und Dijodtyrosin gleich stark gehemmt (13 mg%), wodurch die Versuche von KJERULF-JENSEN[1] eine Bestätigung finden.

Es war nun von Interesse, weitere Jodverbindungen zu untersuchen.

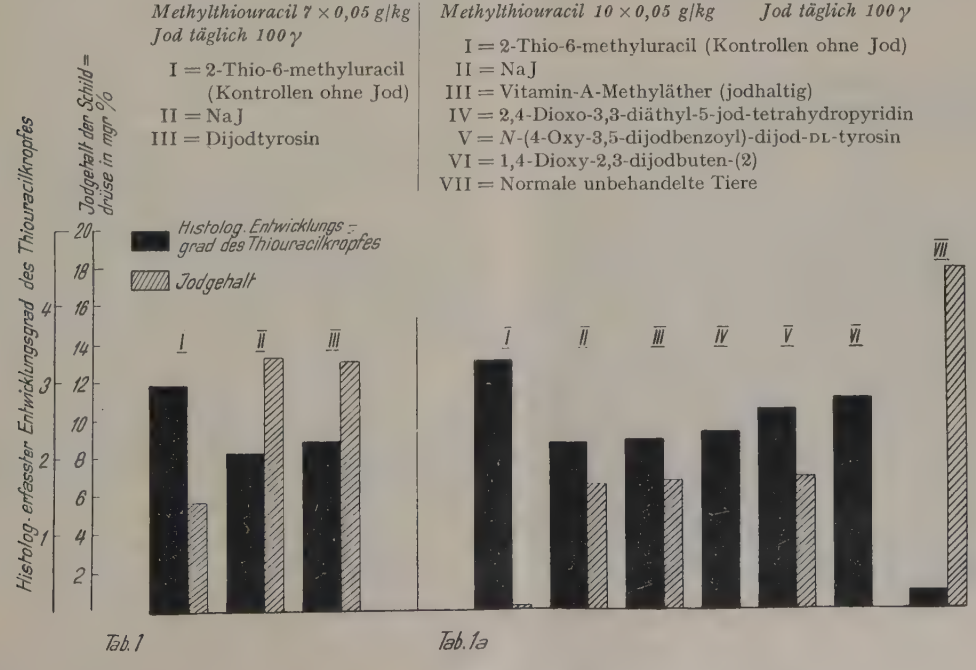
Versuch 2. 96 weibliche, 30–40 g schwere Ratten erhielten täglich während 10 Tagen 0,05 g/kg Methylthiouracil in 0,1 cm³ wässeriger Suspension *per os*. In fünf Gruppen von 16 Tieren wurde zusätzlich mit 100 µg Jod je Tier pro Tag in 0,05 cm³ Aqua dest. behandelt, und zwar in Form von NaJ (II), jodhaltigem Vitamin-A-Methyläther (III), 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-5-jodtetrahydropyridin (IV), *N*-(4-Oxy-3,5-dijod-benzoyl)-dijod-DL-tyrosin (V) und 1,4-Dioxy-2,3-dijod-buten-(2) (VI). Die Jodhaftfestigkeit dieser Verbindungen nimmt in der Reihenfolge II–VI zu. Eine Gruppe von 16 Tieren wurde nur mit Methylthiouracil (I) behandelt und diente als Kontrolle. Bei Versuchsabschluß wurden die Schilddrüsen histologisch untersucht und in vier Versuchsgruppen außerdem der Jodgehalt der Schilddrüse quantitativ ermittelt.

Ergebnis. Wie aus der Tabelle (1a) hervorgeht, nimmt mit zunehmender Haftfestigkeit des Jodes die Hemmwirkung auf den Entwicklungsgrad des Thiouracilkropfes ab, d. h., eine Jodverbindung hemmt das Zustandekommen der Schilddrüsenhyperplasie um so mehr, je beweglicher das Jod in der Verbindung ist. Im jodhaltigen Vitamin-A-Methyläther ist das im Verlauf der Synthese an das Kohlenstoffgerüst gebundene Jod offenbar besonders beweglich. Trotz diesen Unterschieden in der Hemmwirkung, die auch im Versuch 1 mit NaJ und Dijodtyrosin in ganz geringem Maße in Erscheinung treten, ist aber zu betonen, daß auch Verbindungen mit ausgesprochen schwer beweglichem Jod, wie z. B. 1,4-Dioxy-2,3-dijod-buten-(2) die Schilddrüsenveränderung durch Thiouracil hemmen. Dies tritt besonders deutlich in Erscheinung bei der Bestimmung des Jodgehalts. Alle untersuchten Verbindungen hemmen – ungeachtet der Haftfestigkeit des Jodes im Molekül – die Entjodung durch Thiouracil. Während in der nur mit Thiouracil behandelten Kontrollgruppe kein Jod in der Schilddrüse nachzuweisen war, finden sich bei den mit verschiedenen Jodverbindungen behandelten Tieren Jodwerte von 7–8 mg% (gegenüber dem Jodgehalt von 18 mg% der unbehandelten Tiere).

[1] K. KJERULF-JENSEN, Acta med. Scand. *213*, (Suppl.) 247 (1948).
[2] E. B. ASTWOOD, J. Pharmac. Exp. Therapy *78*, 79 (1943).
[3] E. C. KENDALL, J. Biol. Chem. *43*, 149 (1920).
[4] E. B. ASTWOOD und A. BISELL, Endocrinology *34*, 282 (1944).

[1] K. KJERULF-JENSEN, Acta med. Scand. *213*, (Suppl.) 247 (1948).

Hemmung des Thiouracilkropfes und der Thiouracilentjodung der Schilddrüse durch verschieden fest gebundenes Jod



Schlußfolgerung und Zusammenfassung. Die in früheren Untersuchungen beobachtete Hemmung des Thiouracilkropfes der Ratte durch synthetischen Vitamin-A-Methyläther ist nicht auf Vitamin A zurückzuführen, sondern auf Jod, das im Verlaufe der Synthese an Vitamin A gebunden wurde.

Die Beziehungen zwischen Thiouracil und Jodverbindungen mit verschiedener Beweglichkeit des Jodes: NaJ (II), jodhaltigem Vitamin-A-Methyläther (III), 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-5-jod-tetrahydropyridin (IV), *N*-(4-Oxy-3,5-dijod-benzoyl)-dijod-DL-tyrosin (V) und 1,4-Dioxy-2,3-dijodbuten-(2) wurden an der Schilddrüse der Ratte durch histologische Beurteilung des Entwicklungsgrades des Thiouracilkropfes und durch Bestimmung des Jodgehaltes der Schilddrüse untersucht. Die Entjodung durch Thiouracil wird durch die untersuchten Jodverbindungen, ungeachtet der Beweglichkeit des Jodes deutlich gehemmt. Der histologisch erfaßbare Thiouracilkropf wird durch diese Jodverbindungen ebenfalls gehemmt, wobei hier mit der Beweglichkeit des Jodes der Grad der Hemmwirkung zunimmt.

Alfred Studer

Aus der Medizinischen Forschungsabteilung der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG. Basel, den 15. Juni 1949.

Summary

The inhibition of thiouracil goitre in the rat by the methyl ether of vitamin A reported in previous investigations is not to be referred to vitamin A, but to the iodine that is bound to vitamin A in the course of its synthesis.

The relation between thiouracil and iodine compounds with different mobility of the iodine: NaI (II), the iodine-containing methyl ether of vitamine A (III), 2:4-dioxo-3:3-diethyl-5-iodine-tetrahydropyridin (IV), *N*-(4-oxy-3:5-diiodine-benzoyl)-diiodine-DL-tyrosine (V), and 1:4-dioxy-2:3-diiodine-buten-(2) were studied in the thyroid gland of the rat by histological investigation of the degree of development of the thiouracil goitre and by determination of the iodine content of the thyroid. The iodine deprivation caused by thiouracil is definitely inhibited by the iodine compounds named, regardless of the motility of the iodine. The histologically demonstrable thiouracil goitre is likewise inhibited by these compounds, and here the degree of inhibition increases with the motility of the iodine.

Die Mobilisation von *Musculomyces* durch das Virus der Ektromelie

Die Veranlassung zu der folgenden Mitteilung gab die kürzlich von Sabin[1] gemachte Angabe, daß die in Mäusezuchten gelegentlich zu beobachtenden, dem Erreger der Rinderperipneumonie morphologisch ähnlichen Mikroben intrazelluläres Wachstum zeigen. Nach unsern Beobachtungen ist dies keineswegs der Fall. Diese in der 6. Aufl. von Bergeys *Determinative Bacteriology*[2] unter dem Genusnamen *Musculomyces* aufgeführten Organismen wuchern epizytär, niemals intrazellulär. Wir stießen vor einigen Jahren zufällig auf eine Methode, mit welcher es uns regelmäßig gelang, einen toxischen und einen atoxischen Stamm von *Musculomyces* im Peritoneum der weißen Maus zu enormer Vermehrung zu bringen. Die Methode besteht in intraperitonealen Passagen der *Musculomyces*stämme in Gemeinschaft mit dem Virus der infektiösen Ektromelie. Wir haben diese Methode kürzlich wieder an einem frischen Stamm von *Musculomyces* erprobt. Es handelt sich um einen Stamm, der in der Maus bei intraperitonealer Applikation vollständig inapparent verlief. Er wurde wie die beiden früher isolierten Stämme[1] zufällig aus Lungen weißer Mäuse gewonnen. In Peritonealausstrichen von Mäusen, die mit dem reinen Stamm inokuliert wurden, fanden sich die Erreger, wenn sie überhaupt mikroskopisch zu finden waren, nur in sehr spärlicher Zahl, teils frei liegend, teils in kleinen Grüppchen, der Peripherie der Endothelzellen anhaftend. Wenn sie nicht an der Peripherie lagen, konnte man darüber im Zweifel sein, ob sie *in* oder *auf* den flachen Endothelzellen lagen. Die Entscheidung ließ sich leicht fällen an mit Giemsa-Lösung gefärbten Peritonealausstrichen von Mäusen, welche gleichzeitig mit *Musculomyces* und dem Virus der Ektromelie inokuliert worden waren. Wie anläßlich früherer Beobachtungen in unserem Laboratorium[2] trat unter dem Einfluß des Virus der Ektromelie auch bei diesem Stamme eine enorme Vermehrung von *Musculomyces* auf, der die Endothelzellen in Form kohärenter, dicker Rasen überwucherte. Diese epizytären Kolonien wurden bei der Anlegung der Ausstriche zuweilen gänzlich oder teilweise von den Zellen abgelöst, wobei die nun freigelegte Endothelzelle eine vollständig intakte Oberfläche resp. Peripherie erkennen ließ. Einwandfrei ließ sich das ausschließlich epizytäre Wachstum auch an mikroskopischen Schnitten des Peritoneums nachweisen. Intrazellulär fanden sich die ringförmigen Erreger nur in Phagozyten. Während bei intraperitonealer Inokulation der reinen *Musculomyces*stämme die Infektion auf das Peritoneum beschränkt blieb, trat nach Inokulation von *Musculomyces* in Gemeinschaft mit dem Virus der Ektromelie eine allgemeine Infektion des Blutes und der Organe auf. Bei unserer ersten Begegnung mit *Musculomyces* glaubten wir, daß es sich um eine Mobilisation von *Eperythrozoon coccoides* durch das Virus der Ektromelie handle. Tatsächlich hat *Musculomyces* wegen seiner ringförmigen Gestalt und seiner färberischen Eigenschaften große Ähnlichkeit mit *Eperythrozoon*. Beide wuchern epizytär, ersteres auf Endothelzellen, letzteres auf roten Blutkörperchen.

H. Mooser

Hygiene-Institut der Universität Zürich, den 1. Juli 1949.

Summary

The virus of ectromelia induces an enormous multiplication of *Musculomyces* in the peritoneum of the white mouse. In mice inoculated with *Musculomyces* alone the resulting scanty infection remains confined to the peritoneal cavity. In the presence of the virus of ectromelia *Musculomyces* causes a systemic infection. It does not invade the cells, growth is confined strictly to their surface.

[1] A. B. Sabin in R. J. Dubos' *Bacterial and Mycotic Infections of Man* (J. B. Lippincott Co., Philadelphia, 1948).

[2] Bergey's *Manual of Determinative Bacteriology*, 6th ed. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1948).

[1] H. Mooser, Exper. *1*, 336 (1945). – R. Schauwecker, Schweiz. Z. Pathol. Bakteriol. *10*, 5 (1947).

[2] H. Mooser, Exper. *1*, 336 (1945). – R. Schauwecker, Schweiz. Z. Pathol. Bakteriol. *10*, 5 (1947). – Bergey's *Manual of Determinative Bacteriology*, 6th ed. (The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1948).

Die Meerschweinchenpathogenität von Tuberkelbazillen, die aus spezifisch vorbehandelten Ratten stammen

Die Resistenz der Ratte gegen eine typische tuberkulöse Erkrankung ist seit langem bekannt[1]. Es ist dabei aufgefallen, daß diese Eigenschaft mit dem Fehlen der Sensibilisierbarkeit gegen Tuberkulin verbunden ist[2]. Weder das Kochsche noch das Arthussche Phänomen lassen sich erzeugen, und die Ratte zeichnet sich allgemein durch eine geringe Neigung zu allergischen Phänomenen aus[3]. Eine Allergie gegen Tuberkulin, wie sie gewöhnlich an der Haut geprüft wird, kann somit keinen Anteil am Gesundbleiben tuberkulös infizierter Ratten haben. Möglicherweise entwickelt sich aber eine davon verschiedene Immunität entsprechend dem Zustand, den Birkhaug[4] und Corper und Cohn[5] bei tuberkulösen, gegen Tuberkulin desensibilisierten Meerschweinchen nachgewiesen haben. Es wäre denkbar, daß eine derartige Umstimmung des Wirtsorganismus die Pathogenität von eingebrachten Tuberkelbazillen verändert.

In der Absicht, diese Frage zu prüfen, wurden folgende, orientierende Versuche ausgeführt:

13 erwachsene weiße Ratten beiderlei Geschlechts werden durch wöchentlich einmalige intravenöse Injektion von je 1 mg autoklavierter, humaner Tuberkelbazillen vorbehandelt, und zwar 1 Tier 7mal, 6 Tiere 11mal und 6 Tiere 13mal. — Bei früheren Untersuchungen ist die makro- und mikroskopische Unversehrtheit der Leber trotz reichlichen Gehalts an virulenten Tuberkelbazillen aufgefallen. Es wurde deshalb angenommen, daß sich eine allfällige Änderung der Beziehung zwischen Wirt und Parasit besonders an diesem Organ geltend machen würde. Eine Woche nach Abschluß der Vorbehandlung werden deshalb 10 Tiere mit der absichtlich niedrig gehaltenen Dosis von $^1/_{1000}$ mg (Feuchtgewicht) desselben Stammes, der autoklaviert zur Vorbehandlung gedient hat, intrahepatisch nach Eröffnung der Bauchhöhle injiziert. (Es handelt sich um einen frisch isolierten, auf Sauton gehaltenen Humanusstamm, von dem $^1/_{1000}$ mg subkutan erwachsene Meerschweinchen in rund 3 Monaten an generalisierter Tuberkulose zugrunde gehen läßt.) 3 Tiere erhalten dieselbe Dosis intravenös. 12 Ratten dienen als Kontrollen, von denen 5 intravenös und 7 intrahepatisch infiziert werden. Die Tiere werden nach 6–25 Wochen durch Dekapitation getötet. Sie weisen, wie üblich, keine makroskopisch erkennbaren pathologischen Veränderungen auf.

Zur Prüfung der Pathogenität für Meerschweinchen wird die Rattenleber frisch mit der doppelten Menge physiologischer Kochsalzlösung im Mörser zerrieben. Von der Suspension werden jeweils 2 cm³ einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert.

Als Beispiel werden die Versuche mit den Lebern derjenigen Ratten herausgegriffen, die während 11 Wochen mit wöchentlich 1mal 1 mg toter Tuberkelbazillen intravenös vorbehandelt und 13 Wochen nach der intrahepatischen Infektion mit $^1/_{1000}$ mg desselben, lebenden Bazillenstammes getötet worden sind:

Meerschweinchen Nr.	Geschlecht	Anfangsgewicht g	Endgewicht g	Leber g	Milz g	Lebensdauer nach der Infektion, Wochen
8	♀	400	240	11	1	17*
9	♂	340	420	42	9	19
10	♂	410	300	31	4	8
14	♂	400	300	28	6	15
		Kontrollen				
5	♂	450	375	40	2,5	14
6	♂	500	360	46	7,5	11*
7	♂	500	540	38	3	20

* Spontan eingegangen, übrige Tiere getötet.

Alle Meerschweinchen weisen teils leichte, teils schwere tuberkulöse Veränderungen auf, ohne daß sich eine gesetzmäßige Verteilung derselben auf die eine der Gruppen feststellen ließe. Auffallend ist die Häufigkeit der schweren, tuberkulösen Leberzirrhosen bei den Meerschweinchen. — Es ist zu vermuten, daß die Resistenz der Ratte gegenüber Tuberkulose ein primärer Zustand ist. Eine Sensibilisierung gegen die Bestandteile der Tuberkelbazillen scheint nicht stattzufinden oder sich in keiner Pathogenitätsänderung der in den vorbehandelten Organismus eingebrachten, lebenden Bazillen auszuwirken.

Dem Vorsteher der pathologisch-anatomischen Anstalt der Universität Basel, Herrn Prof. Dr. A. Werthemann und Herrn Prof. Dr. F. Roulet sei bestens für ihre Unterstützung gedankt, ebenso der I. R. Geigy AG.

H. Birkhäuser

Tuberkulosefürsorgestelle Basel, den 30. Mai 1949.

Summary

Tubercle bacilli of the human type were injected intrahepatically into white rats, after these animals had been treated previously with killed bacilli of the same strain. Suspensions of the infected livers later proved to be equally pathogenic for guinea-pigs whether they were taken from specifically pre-treated or from untreated rats.

On the Effect of Isomers of PAS (para-aminosalicylic acid) and Related Substances on the Tuberculostatic Effect of PAS

In previous papers, Lehmann[1], it was mentioned that the discovery of the tuberculostatic effect of PAS was based on a theory that this substance should be able to inhibit the stimulatory effect of salicylic acid on the respiration of the tubercle bacillus (Bernheim[2]) and thereby inhibit even the growth of the bacillus.

The inhibition of growth was easily shown, but the inhibitory effect on respiration could not be demonstrated[3]. The mechanism of growth inhibition by PAS was therefore obscure.

1 R. Koch, Berliner klin. Wschr. *19*, 221 (1882).

2 Übersicht bei C. C. Wessels, Amer. Rev. Tuberc. *43*, 449ff. (1941).

3 E. Hehre und J. Freund, Arch. Pathol. *27*, 289 (1939).

4 K. Birkhaug, Acta med. Scand. *109*, 250 (1941).

5 H. J. Corper und M. L. Cohn, Amer. Rev. Tuberc. *41*, 71 (1940).

1 J. Lehmann, The Lancet, Jan. *5*, 14 (1946); Svenska Läkartidn. *43*, 2029 (1946); Nordisk Medicin *31*, 2112 (1946); *33*, 140 (1947); Rev. gén. Sci. *54*, 222 (1947).

2 F. Bernheim, Science *92*, 204 (1940).

3 J. Lehmann, Rev. gén. Sci. *54*, 222 (1947).

Another explanation was supposed to be an interference of PAS with the nitrogen metabolism of the bacillus. It is known from the work of Klein and Kamin[1], and Herner[2] that benzoic and salicylic acid specifically inhibit the desamination of alpha-amino acids. If PAS had a still stronger effect on this process a serious disturbance of the intermediate metabolism and growth could be expected. Even this explanation was not found valid, as PAS did not poison the desamination of amino acids in the bacillus[3].

New approaches to the problem were therefore undertaken in a series of experiments conducted in 1946, in which it was investigated whether isomers of PAS and other related compounds were able to compete with PAS and abolish the tuberculostatic effect. The specificity of the structural relationship between the different groups in PAS could in this way be elucidated and could amplify earlier knowledge on this subject Lehmann[4], Youmans, Raleigh and Youmans[5], Goodacre, Mitchell and Seymour[6], Hirt and Hurni[7] and perhaps open the way for new theories.

In an early phase of these experiments the writer was informed by a personal communication from Dr. S. Tobie, of the American Cyanamid Company, that H. J. White, bacteriologist at the Company, in unpublished results had been able to show a competitive effect of para-aminobenzoic acid (PABA) on PAS. As will be seen from the following experiments this observation could be fully verified and was announced in a paper presented at the November Meeting of the Swedish Tuberculosis Association in Stockholm 1947, together with the other results presented in this paper. Similar findings with PABA have been reported by Youmans *et al.*[5] Goodacre *et al.*[7] and Hurni[8].

The effect of monohydroxybenzoic acids on the tuberculostatic effect of PAS

The experiments were arranged so that in simultaneous series the tuberculostatic effect of the neutralized acids were tested alone in concentrations from 10^{-3} to 10^{-7} mol and in the same concentrations together with PAS at a fixed concentration of 10^{-5} mol. This concentration of PAS was chosen as it is the lowest concentration by which a nearly complete inhibition is accomplished (90–95% inhibition in all the present experiments). A competitive effect will therefore diminish the inhibitory effect of this concentration of PAS. The strain used was the BCG strain, the medium was that of Sauton. Technic as described elsewhere (Lehmann[9]).

It will be seen (Table), that the monohydroxybenzoic acids tested alone increase in tuberculostatic effect as the hydroxy group moves closer to the carboxyl group thus from the para-position to the ortho-position, which is in accordance with earlier observations[9]. When combined with PAS no significant competitive effect is seen. Ortho-hydroxybenzoic acid (salicylic acid) could have been expected to diminish the effect of PAS, as this configuration is represented in PAS. Possibly there is a slight effect at 10^{-5} mol, i. e. in the same concentration as PAS. However, the inhibition is not significant.

Inhibition of different benzoic acid derivatives—alone and combined with 10^{-5}mol PAS—on the growth of the tubercle bacillus (BCG) in per cent

Concentration of substance in medium (molarity)		10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
2-hydroxy-benzoic acid	Alone	90	88	35	3	2
	+ PAS 10^{-5}	90	90	70	76	74
3-hydroxy-benzoic acid	Alone	89	70	10	2	0
	+ PAS 10^{-5}	88	87	78	80	77
4-hydroxy-benzoic acid	Alone	46	30	7	3	2
	+ PAS 10^{-5}	90	88	88	87	90
2-amino-benzoic acid	Alone	67	23	20	17	2
	+ PAS 10^{-5}	82	80	78	78	74
3-amino-benzoic acid	Alone	89	15	7	5	3
	+ PAS 10^{-5}	89	82	82	78	78
4-amino-benzoic acid	Alone	93	80	25	3	3
	+ PAS 10^{-5}	*95*	*55*	*0*	*55*	*90*
2-hydroxy-3-amino-benzoic acid	Alone	30	12	5	0	0
	+ PAS 10^{-5}	94	93	92	93	93
2-hydroxy-5-amino-benzoic acid	Alone	35	7	4	3	3
	+ PAS 10^{-5}	96	96	94	93	95
3-hydroxy-4-amino-benzoic acid	Alone	96	32	3	3	0
	+ PAS 10^{-5}	96	96	93	93	93

The effect of monoaminobenzoic acids on the tuberculostatic effect of PAS

Even in these experiments earlier observations are verified, i. e. the tuberculostatic effect of the monoaminobenzoic acids increases when the amino group moves away from the carboxyl group, thus from the ortho-position to the para-position. In combination with PAS no competitive effect of the ortho- and meta-amino-acids is seen. The para-aminobenzoic acid (PABA), however abolishes completely the tuberculostatic effect of PAS in equimolar concentration (10^{-5} mol). At 10^{-6} mol PABA in itself has no tuberculostatic effect, but inhibits the effect of PAS to about 50%. In 10^{-4} mol PABA itself has a rather strong tuberculostatic effect—80% inhibition—nearly as strong as PAS in 10^{-5} mol—90% inhibition. Instead of an expected additive inhibitory effect, the two substances antagonize one another, resulting in a decrease to about 50% inhibition.

The effect of monoamino-monohydroxybenzoic acids on the tuberculostatic effect of PAS

The tuberculostatic effect of 3-amino- and 5-amino-2-hydroxy-benzoic acids is very little pronounced—only at 10^{-3} mol a slight effect is seen, whereas 4-amino-3-hydroxy-benzoic acid has a more pronounced effect, but considerably less than PAS[1]. All these acids—so closely related to PAS—could be expected to exert the strongest competitive effect on PAS. However, none of them has any competitive effect at all.

[1] J. R. Klein and H. Kamin, J. Biol. Chem. *138*, 507 (1941).
[2] B. Herner, Acta physiol. Scand., Vol. 8, Suppl. 23.
[3] J. Lehmann, Rev. Gén. Sci. *54*, 222 (1947).
[4] J. Lehmann, The Lancet, Jan. *5*, 14 (1946); Svenska Läkartidn. *43*, 2029 (1946); Nordisk Medicin *31*, 2112 (1946); *33*, 140 (1947); Rev. Gén. Sci. *54*, 222 (1947).
[5] G. P. Youmans, G. W. Raleigh, and A. S. Youmans, J. Bacteriol. *54*, 409 (1947).
[6] C. L. Goodacre, B. W. Mitchell, and D. E. Seymour, Quart. J. Pharmacy Pharmacol. *21*, 301 (1948).
[7] R. Hirt and H. Hurni, Helv. chim. acta *32*, 378 (1949).
[8] H. Hurni, Schweiz. Z. Pathol. Bakteriol. *12*, 282 (1949).
[9] J. Lehmann, The Lancet, Jan. *5*, 14 (1946); Svenska Läkartidn. *43*, 2029 (1946); Nordisk Medicin *31*, 2112 (1946); *33*, 140 (1947); Rev. gén. Sci. *54*, 222 (1947).

[1] J. Lehmann, The Lancet, Jan. *5*, 14 (1946); Svenska Läkartidn. *43*, 2029 (1946); Nordisk Medicin *31*, 2112 (1946); *33*, 140 (1947); Rev. gén. Sci. *54*, 222 (1947).

Discussion

The predominating competitive effect of PABA among the mono-aminobenzoic acids is well understood, as this configuration is most closely related to PAS. The complete absence of such an effect of the three mono-amino-monohydroxybenzoic acids is confusing, as well as the absent effect of salicylic acid. This acid should, from a theoretical point of view, have the same possibility as PABA to compete with PAS, as both configurations are represented in PAS. All these findings seem to point to an important role of PABA for the tubercle bacillus. That PABA is produced by the tubercle bacillus is shown by SJÖGREN and EKSTRAND[1] and POPE and SMITH[2]. However, PABA is in itself no growth factor for the tubercle bacillus, as seen from the above experiments. Even in concentrations as low as as 10^{-8} to 10^{-12} mol no stimulating effect of PABA can be demonstrated. On the contrary, already at a concentration of 10^{-4} mol (1·4 mg%), PABA shows 80% inhibition of the growth of the tubercle bacillus. As PABA nevertheless seems to be of importance for the tubercle bacillus, it seems enticing to assume that PABA only is *one* constituent of a complex compound acting as a growth factor for the bacillus. As a model for such a substance folic acid can be mentioned. Folic acid itself does not, however, act as a growth factor for the tubercle bacillus (concentrations from 10^{-3} to 10^{-12} mol tested). If such a complex compound is acting as a growth factor, it seems to be linked with the enzyme systems of the tubercle bacillus mainly through the PABA constituent, as PAS is able to compete with PABA. Such a hypothesis has naturally only value as a guide for continued experiments to find more or less specific growth factors for the tubercle bacillus. No such factor is known at present.

Acknowledgment:–The author is indebted to the Swedish Association for the Prevention of Tuberculosis for economical support, to K. G. ROSDAHL, the Ferrosan Company, Malmö, for the synthesis of the monoamino-monohydroxybenzoic acids, and to Miss J. KUTTNER for technical assitances.

J. LEHMANN

Central Laboratory, Sahlgren's Hospital, Gothenburg, April 4, 1949.

Zusammenfassung

1. Die Wirkung einiger Monoamino-oxybenzoesäuren, Monooxybenzoesäuren und Monoamino-monooxybenzoesäuren auf den tuberkulostatischen Effekt von Paraaminosalicylsäure (PAS) wurde untersucht.

2. Von den geprüften Substanzen übte nur Paraaminobenzoesäure (PABA) eine antagonistische Wirkung auf PAS aus. Diese deutet darauf hin, daß PABA für Tuberkelbazillen bedeutsam ist.

3. Es wird angenommen, daß PABA sich als Bestandteil eines komplexen Wuchsfaktors der Tuberkelbazillen geltend macht und daß PAS diesem Wuchsfaktor entgegenwirkt.

[1] B. SJÖGREN and T. EKSTRAND, Nature *156*, 476 (1945).

[2] H. POPE and D. T. SMITH, Amer. Rev. Tuberculosis *54*, 559 (1946).

DISPUTANDA

Zur CO_2-Resttheorie im Pflanzenbau

GABRIELSEN[1] und Mitarbeiter[2] wiesen darauf hin, daß es schon früheren Untersuchern aufgefallen ist, daß in geschlossenen Systemen grüne Pflanzen oder Teile davon, selbst bei intensivster Belichtung, nicht fähig sind, die von ihnen ausgeatmeten Mengen von CO_2 völlig hinwegzuassimilieren[1]. Der praktisch eminent wichtige Sinn des sich unter solchen Umständen einstellenden Grenzwertes an CO_2 wurde von mir 1919[2] und 1920 in der Abhandlung *Kohlensäure und Pflanzen* (W. Knapp, Halle) auf den Seiten 1–40 eingehend hinsichtlich allen Pflanzenwuchses und aller Nahrungsschöpfung auf Erden erörtert. Auch den Ausdruck *Schwellenwert* (Treshold Value) findet man dort bereits auf den Seiten 7 und 9. Um was es sich handelt, ergeben einige wörtliche Zitate aus meinen früheren Abhandlungen. Auf Seite 40 des Buches stellte ich zunächst gegenüber, daß im Luftmantel der Erde $1530 \cdot 10^9$ Tonnen CO_2 enthalten seien und daß der jährliche Wuchs grüner Pflanzen $86{,}5 \cdot 10^9$ Tonnen CO_2 verbrauche. Es könnten also in einem Jahre $^1/_{18}$ der im Luftmantel der Erde vorhandenen CO_2-Mengen verschwinden, deren Gehalt also von 30 auf 28,34/100 000stel fallen. Dann fuhr ich wörtlich fort: «Immerhin eine Größe, die uns bereits recht verdächtig sein sollte, aber schließlich doch noch nicht sagt, daß die CO_2 in der Luft mangle: denn wir haben gesehen, daß der Innendruck der Pflanzen wohl auch noch eine Verminderung um ein weiteres $^1/_{18}$ auf 26,68/100 000 zuläßt, wodurch schon diese disponible CO_2-Menge auf das Doppelte des Nötigen wüchse. Außerdem hören die dauernden Quellen für CO_2 auch nie auf zu strömen und neue Mengen davon in die Luft zu entsenden, wie die tierische Atmung, die Verwesungsprozesse, die Bodentätigkeit usw. Indessen, was im großen Mittel als hinreichend erscheint, und namentlich dann, wenn, wie bemerkt, die vorhandene CO_2-Menge doch nur gerade hinreichend ist, führt naturgemäß in speziellen Fällen leicht zu einem Zustande des Mangels. Also wenn die CO_2 in der Atmosphäre wohl auch nicht immer im Minimum ist, so sind doch sehr leicht Fälle möglich, wo sie es wirklich ist bzw. äußerst leicht in den Stand des Minimumfaktors beim Pflanzenwuchs gerät...» Dies war der Sinn der 1917 konzipierten und 1919 veröffentlichten CO_2-Resthypothese bzw. Resttheorie: Der mittlere CO_2-Gehalt der Luft von um 0,030% ist nicht das Reservoir an CO_2, aus dem die Grünpflanzen beliebig schöpfen können, sondern der mittlere Rest oder Überbleibsel, den sie unter den *mittleren* herrschenden Bedingungen von Licht, Temperatur und Feuchte und sonstigem nicht mehr ausnützen können. Schon damals leitete ich ab, daß bei starker Belichtung dieser Wert evtl. auf 0,010% herabgehen könne. Und indem ich in den folgenden 30 Jahren die Luft an den verschiedensten Orten Europas untersuchte, z. B. im Binnenlande Norddeutschlands[3], am Strande der Nordsee[4], im Hochgebirge um Davos und Muottas Murail[5], gelangte ich schließlich dazu, im geschlossenen System – es wurden Kronen von Fliederhochstämmchen in Cellophansäcke eingeschlossen – den Restwert an Atmungs-CO_2 1929[6] mit 0,009–0,012% festzustellen, also genau identisch wie GABRIELSEN dies 1948 für Hollunderblätter fand. Indem ich einige der Sätze aus der Schlußzusammenfassung dieser Mitteilung

[1] E. K. GABRIELSEN, Nature *161*, 138 (1948).

[2] E. K. GABRIELSEN und L. SCHOU, Exper. *5*, 116 (1949).

[1] A. A. IRWING, Ann. Botany *24*, 805 (1910).

[2] E. REINAU, *Kohlensäure und Pflanzen*, S. 1ff. (W. Knapp, Halle 1920).

[3] E. H. REINAU, *Die Technik in der Landwirtschaft 5*, 186 (1924).

[4] E. H. REINAU, *Festschrift anläßlich des 70. Geburtstages von Jul. Stoklasa*, S. 305 (Parey, Berlin 1928).

[5] Gerlands Beiträge zur Geophysik *25*, 178 (1930). – E. REINAU, *Praktische Kohlensäuredüngung in Gärtnerei und Landwirtschaft*, S. 23ff. und S. 59 (Springer-Verlag, Berlin 1927).

[6] E. H. REINAU, Gartenwissenschaft *3*, 101 (1930).

hier wiederhole, glaube ich die Bedeutung dieser Feststellung des Schwellen- oder Restwertes der Luft-CO_2 am besten zu kennzeichnen:

1. Bei einem CO_2-Gehalt der Luft von 0,009–0,012 Vol.% hält tags – bei Sonne – die Assimilation der Atmung das Gleichgewicht.

2. Schon ehe dieser Restwert an CO_2 in Luft erreicht wird, ist in ruhender Luft trotz sonst günstigen Bedingungen die Assimilationsleistung sehr vermindert.

3. Zum *Tagesgang des Lichtes* besteht ein *gegensinniger Gang des CO_2-Restwertes*. Dieser unterschreitet die *Schwelle* des mittleren CO_2-Gehaltes der Atmosphäre – rund 0,030 Vol.% – erst ziemlich spät morgens und überschreitet sie auch wieder früh am Abend, also bei noch beträchtlicher Helligkeit. Es ist deshalb wahrscheinlich, daß beschattete Blätter, die auf die atmosphärische CO_2 angewiesen wären, bald zwecklos würden, weil die Atmung mehr verbraucht, als die Assimilation schaffen würde.

4. Der *Nachschub* von CO_2 vermittels der *Bodenatmung* erscheint daher lebenswichtig für beschattete – meist bodennahe – Blätter, indem er verhindert, daß in deren Nähe der CO_2-Gehalt der Umluft auf Restwerte sinkt, wo bei ihnen gegebener Belichtung die Assimilation von der Atmung überwogen würde. Es erscheint als *sinnvoller Gegenstrom*: Licht von oben, CO_2 von unten – was *Anpassung der Lebensform* an Umweltsbedingungen *in Pflanzengestalt* ist.

5. Wuchs ausschließlich mittels bodenbürtiger CO_2 gibt größere Assimilationsleistung – am Ertrage festgestellt – als in atmosphärischer Luft-CO_2. Die *Atmosphäre* bewirkt also eine *Verdünnung der bodenbürtigen CO_2*, die ertragsvermindernd ist.

Ich hoffe, in Kürze diese wenigen Bemerkungen im größeren Rahmen des Themas «CO_2-Düngung, Humus und Maximalerträge» nach einem Kolloquium in der Botanischen Anstalt der Universität Basel darzustellen.

E. H. Reinau

Bodenhygiene- und Bodengesundheitsdienst, Lörrach (Baden), den 1. Mai 1949.

Summary

The expression "threshold value" in connection with assimilation and plant growth is in use since 1919 and means that low concentration of carbon dioxide in the air around green plants which fluctuates in the neighborhood of 0·030 vol.% according to the daily variations of light intensity, temperature, and moisture, with its minimum in full sunlight of 0·009–0·012 vol.%. Deductions for practical horticulture are drawn.

Bemerkungen zur Mitteilung von E. H. Reinau: Zur CO_2-Resttheorie im Pflanzenbau

In einer Mitteilung, die 1948 veröffentlicht wurde[1], benutzte ich den Ausdruck «Schwellenwert» (Threshold Value) als Bezeichnung für die Konzentration von Kohlendioxyd, die gerade überschritten werden muß, um die Photosynthese in grünen Blättern hervorzurufen.

Der primäre Beweis für die Existenz eines solchen Schwellenwertes ergibt sich aus meinen Versuchen mit Holunderblättern[1,2], die in sehr CO_2-armer Luft kräftig belichtet wurden. Unter diesen Bedingungen scheiden die Blätter Atmungs-CO_2 aus, bis der photosynthetische Schwellenwert bei 0,0090 Vol.% erreicht ist. Weitere Versuche[3] haben gezeigt, daß eine CO_2-Ausscheidung durch Blätter aller Pflanzenarten stattfindet, wenn sie bei hohen Belichtungsstärken in CO_2-arme Luft gebracht werden.

Ein sekundärer Beweis ergibt sich aus der Tatsache, daß ein belichtetes Blatt, das in einem geschlossenen Raum atmosphärischer Luft eingesperrt ist, nur CO_2 aufnehmen kann, bis der Schwellenwert erreicht ist[1,2]. Dieser Beweis wird ferner durch Resultate unterstützt, die Reinau[4] und Miller und Burr[5] mit ganzen Pflanzen unter gleichartigen Bedingungen erzielt haben. Ein Absinken der CO_2-Konzentration auf Werte unter 0,009 Vol.% wurde auch in diesen Fällen nicht beobachtet. Es muß jedoch bemerkt werden, daß bei diesen letzten Versuchen nur ein Gleichgewicht erzielt wird, und zwar zwischen dem CO_2-*Verbrauch* bei der Photosynthese und der CO_2-*Produktion* der Stengel und stark beschatteter Blätter. Wenn der Verbrauch mit größerer Geschwindigkeit als die Produktion vor sich geht und wenn die Versuchsdauer genügend lang ist, dann wird der Gleichgewichtswert selbstverständlich mit dem Schwellenwert übereinstimmen. Wenn dies aber, wie in einigen Versuchen Reinaus, nicht der Fall ist, dann wird der Gleichgewichtswert höher als der Schwellenwert.

Um eine Verwirrung zu vermeiden, halte ich es für richtig, den Ausdruck «Schwellenwert» nur im Sinne der eingangs gegebenen Definition zu benützen. Jedenfalls sollte man davon absehen, die Bezeichnung «Schwellenwert» für das Gleichgewicht zwischen CO_2-Verbrauch und CO_2-Produktion im Freien zu verwenden, wie das Reinau tut.

E. K. Gabrielsen

Pflanzenphysiologisches Laboratorium, Königl. Tierärztliche und Landwirtschaftliche Hochschule, Kopenhagen, den 2. Mai 1949.

Summary

In a brief communication to "Nature"[1] I have introduced the term "Threshold Value" to design the lowest carbon dioxide concentration in the atmosphere at which photosynthesis of green leaves can take place. The final proof for the existence of this threshold is found in my experiments with leaves exposed to high light intensities in air poor in carbon dioxide[1,2]. These experiments show that respiratory carbon dioxide is expired until the threshold value for photosynthesis is reached at 0·0090 vol.%. To avoid confusion it is considered best to use the term "Threshold Value" only in the sense stated above. Reinau's use of the term to designate equilibria between consumption and production of carbon dioxide, found in the open air, seems to be without any adequate basis.

[1] E. K. Gabrielsen, Nature *161*, 138 (1948).

[2] E. K. Gabrielsen, *Nordisk Förening Fysiol. Bot.* (Lund 1947).

[3] E. K. Gabrielsen, Nature *163*, 359 (1949). – E. K. Gabrielsen und L. Schou, Exper. *5*, 116 (1949).

[4] E. H. Reinau, Gartenbauwissenschaft *3*, 101 (1930).

[5] E. S. Miller und G. O. Burr, Plant Physiol. *10*, 73 (1935).

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Atomic Energy

By Karl K. Darrow, D. 80 pp., 13 Figs.
(John Wiley & Sons, Inc., New York – Chapman & Hall, Ltd., London, 1948) ($ 2.00)

Dieses Büchlein stellt den Text der vier Vorlesungen dar, die Karl K. Darrow 1947 im Rahmen der Norman Wait Harris Foundation an der Northwestern University gehalten hat. In leichtverständlicher Weise wird der Aufbau der Atome sowie die grundlegenden Eigenschaften der Atomkerne und ihrer Bausteine erklärt. Immer weiter in die Kernphysik eindringend, erfährt man das Wesen der Bindungsenergie der Atomkerne, der Kernreaktionen und der Radioaktivität. So vermittelt Dr. Darrow in den ersten drei Vorlesungen das nötige Rüstzeug, um die berühmten Anwendungen der Uranspaltung in der Atombombe und den «Uranöfen» (Pile) verstehen zu lernen.

Dieses Buch, vom Fachmann für den Laien geschrieben, schafft ein einfaches, aber klares Bild dieses nun so bekanntgewordenen Gebietes der Kernphysik. Die packende, frische Sprache Dr. Darrows, seine originellen Vergleiche und die humorvollen Anekdoten machen "Atomic Energy" auch für den Eingeweihteren interessant und sehr lesenswert.

A. Stebler

Lehrbuch der physiologischen Chemie

Von Emil Abderhalden
26. Auflage, 523 S., 83 Abbildungen
(Verlag Benno Schwabe & Co., Basel 1948)
(geb. Fr. 32.–)

Die stetige und rasche Entwicklung der physiologischen Chemie muß naturgemäß zu einer raschen Veralterung von Lehrbüchern führen. Es ist daher erfreulich, daß das bekannte Buch von Emil Abderhalden wiederum eine Neubearbeitung und ausgedehnte Erweiterung erfahren hat. Diese 26. Edition des «Abderhaldens» enthält eine Fülle neuer Ergebnisse der wissenschaftlichen Forschung der letzten Jahre und ist damit dem Stand unserer heutigen Kenntnisse weitgehend angepaßt. Die Ausführungen gliedern sich wie bei den früheren Auflagen in Vorlesungen, die hier bereits die stattliche Zahl von siebenunddreißig erreicht haben.

Es spricht für die große Beliebtheit, deren sich dieses Buch erfreut, daß eine Neuauflage schon nach Jahresfrist notwendig wurde. Da auch seine Ausstattung in jeder Hinsicht vortrefflich ist, darf angenommen werden, der Leserkreis werde sich weiterhin vergrößern.

K. Bernhard

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

STUDIORUM PROGRESSUS

Die Erholungsatmung der Larven von *Chironomus* und *Eutanytarsus* und ihre ökologische Bedeutung

Von O. Harnisch[1], Plön

Eines der wichtigsten Probleme der modernen Gewässerkunde (Limnologie) bedeutet der Sauerstoffgehalt der Wasserbecken, der ein wesentliches Kennzeichen ihres Stoffwechsels ist. Die Eigenart der – stark verarmten – Tierwelt der Gewässer mit Sauerstoffschwund gab den ersten Anstoß zur Begründung einer regionalen Limnologie. Für die weitere Erforschung ihrer Probleme ist die Klarstellung der physiologischen Grundlagen des Lebens der Tiere in sauerstoffarmen oder gar -freiem Medium von größter Bedeutung. Ein besonders günstiges Objekt für diese Untersuchungen sind die Larven der Chironomiden (Zuckmücken), von denen viele (z. B. *Eutanytarsus*) auf Medien höheren Sauerstoffgehaltes beschränkt sind, während andere (z. B. Arten der Gattung *Chironomus*) extremen Sauerstoffschwund vertragen. Ich habe mir die Untersuchung des Gaswechsels dieser Tiergruppe zur Lebensaufgabe gemacht und möchte im folgenden kurz das bisher Erreichte allgemein verständlich darstellen und auch auf Grund neuerer, noch nicht veröffentlichter Untersuchungen darauf hinweisen, in welcher Richtung weitergeforscht werden muß.

In einer Reihe von Arbeiten[1] habe ich die gesteigerte Erholungsatmung (Sauerstoffschuld, Oxygen debt) der euroxybionten Larven von *Chironomus thummi* nach erzwungener Anaerobiose untersucht. Auf die dabei gefundenen physiologischen Eigentümlichkeiten, die die Erholungsatmung («sekundäre Oxybiose») von der Standardenergiegewinnung («primäre Oxybiose») unterscheiden, sei hier nicht eingegangen; es sei nur die ökologische Bedeutung ins Auge gefaßt. Diese ist in folgendem zu sehen: Anaerobe Energiegewinnung durch Spaltungsprozesse, die vielfach auch unter aeroben Bedingungen getätigt wird[2], erfordert, wenn Schädigung des Stoffwechsels vermieden werden soll, eine dazu gehörige aerobe Phase. Diese muß bei ausgesprochen stenoxybionten Tieren (z. B. an Luft lebenden Insekten) gleichzeitig getätigt werden, während sie bei fakultativ euroxybionten Tieren (z. B. Schlammbewohnern, wie Larven von *Ch. thummi*) in auf die Anaerobiose folgender Zeit respiratorisch günstigerer Bedingungen als «Erholungsatmung» nachgeholt werden kann. Wie lange die aerobe Erholung ohne Schaden für den Organismus hinausgeschoben werden kann, bestimmt der Grad der Anpassung des Organismus an fakultative Anaerobiose. Vergleichende Untersuchungen an der gegen Sauerstoffmangel wenig empfindlichen Larve von *Ch. thummi* und der wesentlich empfindlicheren Larve

[1] Hydrobiologische Anstalt der Max-Planck-Gesellschaft, Plön, Holstein.

[1] O. Harnisch, Z. vergl. Physiol. *23*, 391 (1936); *24*, 387 (1937); Arch. Hydrobiol. *40*, 184 (1943).

[2] O. Harnisch, Z. vergl. Physiol. *30*, 145 (1943); Biolog. gen. *18*, 30 (1944).

Sauerstoffverbrauch (mm^3 pro 1 g und $^1/_2$ Stunde) einiger Chironomidenlarven nach wechselnder Vorbehandlung

Tierart	unbehandelt	O_2-Tiere	6^h N_2	16^h N_2	$22–24^h$ N_2	48^h N_2
Eutanytarsus	247,34	135,2	229,3	243,84	307,5	
Ch. thummi	208,72	139	241,7	197,63	240,3	
Ch. tentans	194,37	90,01	128,34	128,28	152,36	
Ch. plumosus	95,9 –120,8	–	–	117,5	–	
Ch. anthracinus	121	63,975	–	65,63	73,225	74,826

von *Eutanytarsus inermipes*[1] (*Micropsectra praecox*) zeigten mir, daß nach einer Vorbelastung von 22–24 Stunden Anaerobiose die Larven von *Ch. thummi* stark erhöhte, aber im Laufe der Zeit bei stetem Wechsel von höheren und etwas niederen Werten langsam absinkende Erholungsatmung haben, was einer infolge starker Belastung zwar verzögerten, aber doch noch erfolgreichen Erledigung der Aufgabe der Erholungsatmung entspricht. Die Larven von *Eutanytarsus* zeigten nach gleicher Vorbelastung durch Anaerobiose zwar ebenfalls stark gesteigerte Erholungsatmung, aber diese stieg, statt durch Neigung zum Absinken erfolgreiche Erholung anzuzeigen, ständig weiter an, bis der Tod der durch die Anaerobiose irreparabel geschädigten Larven erfolgte.

Ich glaubte hiermit den Schlüssel zum Verständnis der Euroxybiose von Schlammbewohnern gefunden zu haben; aber das Studium des Gaswechsels von Larven anderer Arten der Gattung *Chironomus*, die noch weit mehr als die Larven von *Ch. thummi* zum Leben ohne Sauerstoff gezwungen sind, belehrte mich eines Besseren. Die bislang studierten Larven von *Ch. thummi* sind Bewohner des an Sauerstoff armen Schlamms von Flachgewässern (Teiche, Tümpel, Gräben). Sie dürften hier verhältnismäßig oft respiratorisch günstigere Bedingungen geboten bekommen, jedenfalls nicht zu lang anhaltendem Leben ohne Sauerstoff gezwungen sein. Dagegen sind die *Chironomus*larven des Schlamms der Tiefe eutropher Seen (*Ch. anthracinus* und *plumosus*) oft zu wochen-, ja monatelangem praktisch anaerobem Leben gezwungen; die Larve von *Ch. tentans*, die vorwiegend vergreisende, Sapropel führende Seereste bewohnt, dürfte zeitweilig ähnliche Lebensbedingungen wie die Larve don *Ch. thummi* haben, im Sommer aber oft eine längere Zeit des Sauerstoffmangels – ähnlich wie die Formen der Seentiefe – durchzumachen haben.

Ich hatte gedacht, daß die Larven dieser Arten besonders ausgeprägte und schon bei niederen Sauerstoffpartialdrucken in Erscheinung tretende Erholungsatmung haben würden. Messungen ergaben das Gegenteil: Winberg[2] fand (in methodisch nicht ganz eindeutigen Versuchen), daß die Atmungsgröße von *Ch. plumosus* durch anaerobes Leben von erheblicher Dauer nicht gesteigert wird. Walshe[3] fand in sorgfältigen Untersuchungen an der Larve von *Ch. plumosus*, daß Sauerstoffentzug von 16 Stunden nur geringfügige und rasch vorübergehende Steigerung des Sauerstoffverbrauchs zur Folge hatte. An Larven von *Ch. anthracinus* (= *bathophilus*) fand ich durch Vorbehandlung mit Stickstoff selbst von längerer Dauer nur ganz geringfügige Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs[4]. – Aus ihrem Biotop eingebrachte Larven zeigen bei *Ch. plumosus* und *anthracinus* gewöhnlich etwas erhöhten Sauerstoffverbrauch, der im Verlauf der Messung absinkt, auffallenderweise aber höher ist als nach Behandlung mit Stickstoff ermittelte Werte. An im Herbst aus dem Freien eingebrachten Larven von *Ch. tentans* wurden zwar erheblich erhöhte Werte der Atmungsgröße gefunden, die denen unvorbehandelter Larven von *Ch. thummi* gleichen, nach Behandlung mit Stickstoff aber werden geringe Atmungsgrößen gemessen, die kaum auf Erholungsatmung hindeuten und durch längere Anaerobiose nur unregelmäßig und wenig gesteigert werden.

Die bisher erhaltenen Werte sind in der Tabelle zusammengestellt. Ich unterstreiche zunächst nochmals den Hauptgesichtspunkt, der sich aus diesem Zahlenmaterial ergibt: Während die ziemlich stenoxybionte Larve von *Eutanytarsus* bei Sauerstoffentzug eine ständig bis zum Tode gesteigerte Erholungsatmung hat, die euroxybionte, aber häufigerer oxybiotischer Erholung bedürftige Larve von *Ch. thummi* nach Anaerobiose von 6–24 Stunden etwa gleichbleibend gesteigerte Erholungsatmung hat[1], zeigen die an länger währendes anaerobes Leben angepaßten Larven von *Ch. plumosus* und *anthracinus* nach entsprechend langem Sauerstoffentzug keine oder doch nur ganz geringfügige Steigerung des oxybiotischen Stoffwechsels, und die erhebliche Erholungsatmung, die *Ch. tentans* zeitweilig im natürlichen Biotop hat, wird bei experimentellem Sauerstoffentzug abgestoppt und macht geringeren, nach längerer Anaerobiose nur etwas erhöhten Werten Platz. Es ist also keine Frage, daß die ökologische Bedeutung der Erholungsatmung von mir, solange ich nur von Untersuchungen an *Ch. thummi* ausging, überschätzt worden ist. Wohl spielt sie im Leben der in Teichen, Tümpeln und Bächen lebenden Larve von *Ch. thummi* eine ausschlaggebende Rolle, und auch die Larve von *Ch. tentans* benutzt offensichtlich nach Zeiten mäßigen Sauerstoffmangels Erholungsatmung, um die ausgefallene aerobe Phase ihres Stoffwechsels auszugleichen, aber bei den Larven, die längere Zeiten des Sauerstoffmangels zu überstehen haben (*Ch. anthracinus*, *plumosus* und auch *tentans*), liegt offensichtlich ein anderes Stoffwechselgeschehen vor, das Ersatz der aeroben Phase des Stoffwechsels ohne zusätzliche Gewinnung von Sauerstoff aus dem Medium leistet (s. Tabelle).

Die Erkenntnis dieses Stoffwechselgeschehens ist für das physiologische Verständnis der Ökologie der *Chironomus*larven von ausschlaggebender Bedeutung. Im folgenden seien einige Beobachtungen mitgeteilt und einige Daten der Literatur besprochen, die uns den Weg zur Lösung des Problems weisen können. Unterwirft man die Larven von *Eutanytarsus* einer Anaerobiose von 15 Stunden, so sind die Tiere reglos starr und von stumpf rötlicher Farbe. Ähnlich verlieren Larven von *Ch. thummi* nach längerem Sauerstoffentzug (22–24 Stunden) zumeist völlig ihre Beweglichkeit und zeigen die stumpf rötliche Farbe reduzierten Hämoglobins. Besonders die

[1] O. Harnisch, Biol. Zbl. *57*, 628 (1937).
[2] G. Winberg, Zool. Z. *18*, 842 (1939).
[3] B. Walshe, J. exp. Biol. *24*, 329 (1947).
[4] O. Harnisch, Zool. Anz. *139*, 1 (1942).

[1] O. Harnisch, Biol. Zbl. *57*, 628 (1937).

Reduktion des Hämoglobins ist schon nach viel früherer Zeit, als soeben angegeben, erkennbar. Dagegen verhalten sich die Larven von *Ch. tentans* ganz anders. Bringt man die Larven in einer Waschflasche mit etwas Wasser unter reinen Stickstoff, so zeigen sie zunächst ebenfalls verminderte Beweglichkeit und stumpfere Farbe; nach wenigen Stunden haben sie jedoch ihre volle Beweglichkeit wiedererlangt und zeigen die frischrote Farbe oxydierten Hämoglobins! Ihre Bewegung ist zumeist nicht das schwerfällige oder heftige «Schlängeln», das die Larven von *Eutanytarsus* und *Ch. thummi* während und besonders nach Anaerobiose zeigen, sondern ungestörtes Kriechen oder auch lebhaftes «Purzeln». Kurz gesagt, Larven von *Ch. tentans* verhalten sich während (und nach) selbst längerer Anaerobiose so, als hätten sie bereits eine erfolgreiche Erholungsatmung hinter sich. (Es ist zu bemerken, daß am Körper der Larven oft Blasen eines noch nicht analysierten Gases zu sehen sind.) Ähnliches gilt für die Larven von *Ch. plumosus* und *anthracinus*, wenn auch namentlich die letzteren durch die Manipulationen bei der Einbringung aus der kühlen Seetiefe meist etwas geschädigt sind und die soeben geschilderte Erscheinung weniger klar erkennen lassen als die Larven von *Ch. tentans*.

Die geschilderte Beobachtung läßt keinen Zweifel daran, daß bei den Larven von *Ch. tentans*, *plumosus* und *anthracinus* schon während der Anaerobiose die zu der anaeroben Energiegewinnung durch Spaltungsprozesse gehörige aerobe (oxybiotische) Phase getätigt wird, ohne daß Sauerstoff aus dem Medium aufgenommen wird. Es ist also anzunehmen, daß von diesen Larven während der Anaerobiose Sauerstoff innerhalb des Körpers gewonnen und damit die aerobe Phase des anaeroben Stoffwechsels bestritten wird und sich so eine nachfolgende Erholungsatmung erübrigt. Ich möchte diesen – noch nicht näher erkannten – Prozeß als *Endoxybiose* bezeichnen.

Die Möglichkeit eines solchen Prozesses der Sauerstoffgewinnung innerhalb des Körpers ist für die Larve von *Ch. tentans* bereits 1921 von Cole[1] aufgezeigt worden. Er fand, daß die Larve von *Ch. tentans* ein Enzym besitzt, das Peroxyde aufzubauen vermag, von denen durch einen anderen enzymartigen Körper der Larven energisch Sauerstoff abgespalten werden kann. Cole fand weiter, daß der Schlamm des Wohngebietes der Larven für den Aufbau von Peroxyden ein sehr geeignetes Material ist. Nach seinen Experimenten ist dieser Prozeß auch bei Licht- und Sauerstoffabschluß möglich. Cole hatte der Vermutung Ausdruck gegeben, daß auf diese Weise eine Fortsetzung des oxybiotischen Stoffwechsels der Larven unter anaeroben Bedingungen möglich sei. Dieser Gedanke ist nach dem, was wir heute wissen, schwerlich zutreffend; es ist vielmehr sicher, daß die Larven unter anaeroben Bedingungen Energiegewinnung durch Spaltungsprozesse tätigen[2]. Aber diese bedürfen nach allem, was bekannt ist, zum ungestörten Fortgang des Stoffwechsels einer aeroben Phase. Daß diese bei den Larven von *Ch. tentans* (wohl ebenso von *Ch. plumosus* und *anthracinus*) durch den von Cole mittels spontaner Guajakharzbläuung festgestellten Prozeß der Bildung und Entladung von Peroxyden geleistet wird, halte ich nach den soeben geschilderten Beobachtungen an *Ch. tentans* in Anaerobiose für sehr naheliegend. Eben diesen Prozeß möchte ich als *Endoxybiose* bezeichnen.

Von Interesse sind in diesem Zusammenhang ferner die Daten über die Gestaltung des Redoxpotentials bei Chironomidenlarven während der Anaerobiose (vgl. besonders Ssinitza)[1]. Während dieser Wert bei der Larve von *Psectrotanypus brevicalcar* durch den Aufenthalt in sauerstofffreiem Medium nicht wesentlich verändert wird, erniedrigt sich *rh* bei *Ch. plumosus* unter den gleichen Umständen von 24,5 auf 8,09. Ich glaube nicht, daß – wie Ssinitza annimmt – dieser Unterschied durch den Hämoglobingehalt der Larven bedingt ist, sondern vermute, daß die starke Erniedrigung von *rh* einer statthabenden starken Reduktion von Peroxyden, also der Endoxybiose zu danken ist. Es wäre, wenn dies richtig ist, zu erwarten, daß Larven, die ihre Sauerstoffschuld durch maximal entwickelte Erholungsatmung begleichen, keine so erhebliche Erniedrigung von *rh* während der Anaerobiose zeigen.

Wenn es richtig ist, daß – wie Cole meint – Peroxyde aus dem zerfallenden Pflanzenmaterial des Schlamms aufgebaut werden, so werden einige Beobachtungen, die an Larven von *Ch. thummi* gemacht wurden, verständlich. Wie eingangs erwähnt, wurde an den Larven dieser Art in früheren Untersuchungen stets maximal entwickelte Erholungsatmung, aber kein Anzeichen einer diese einsparenden Endoxybiose beobachtet, wenn man nicht im Konstantbleiben der Größenordnung der Erholungsatmung bei längerer Ausdehnung der Anaerobiose (Gegensatz zu *Eutanytarsus*) ein Anzeichen für – freilich geringere – endoxybiotische Prozesse erblicken will. Das Material für diese Untersuchungen waren durchweg Hungertiere, die einige Zeit im Laboratorium ohne Futter gehalten worden oder gar mir vom Händler ohne Futter zugesandt worden waren. Nun fand ich im vergangenen Jahr an Material von *Ch. thummi*, das jeweils frisch für die Messung aus einem hiesigen Becken mit Schlamm eingebracht war, weniger gesteigerte Erholungsatmung als an dem früheren Hungermaterial. Es ist denkbar, daß an diesem Material endoxybiotische Prozesse volle Entwicklung der Erholungsatmung nicht in Erscheinung treten ließen, wenn auch der Unterschied gegenüber *Ch. tentans* und besonders *plumosus* und *anthracinus* bestehenbleibt.

Anhangsweise ist noch die Frage zu streifen, wie die geringen an mit Sauerstoff vorbehandelten Tieren gemessenen Werte zu verstehen sind. Ich hatte auf Grund der an *Eutanytarsus* und *Ch. thummi* vorgenommenen Untersuchungen angenommen, daß sie die reine Standardenergiegewinnung (primäre Oxybiose) darstellen. Auffallend ist, daß bei Formen, die schon in ihrem natürlichen Schlammbiotop hohe Atmungsgröße (offenbar Erholungsatmung) haben, die Erzielung niederer Atmungsgröße durch Vorbehandlung mit Sauerstoff oft sehr schwierig, ja praktisch unmöglich ist (*Eutanytarsus*, *Ch. thummi* und zuweilen auch *tentans*), und daß andererseits bei Larven mit ausgeprägter Endoxybiose (*Ch. plumosus*, *anthracinus* und auch *tentans*) auffallend niedere Werte nach Vorbehandlung mit Sauerstoff beobachtet werden. Es erscheint mir wohl denkbar, daß Prozesse vom Charakter der Endoxybiose auch einen erheblichen Einfluß auf die Gestaltung der Atmungsgröße in respiratorisch optimalem Medium haben.

Das hier auf Grund von Beobachtungen und Experimenten entworfene Bild vom Leben der *Chironomus*larven ohne Sauerstoff ist nicht abschließend, sondern soll die Fragestellung für künftige Untersuchungen präzisieren helfen. Das geeignetste Objekt für diese scheint mir die Larve von *Ch. tentans* zu sein, da sie sowohl die Fähigkeit zur Entwicklung maximaler Erholungsatmung

[1] A. E. Cole, J. exp. Zool. *33*, 293 (1921).

[2] O. Harnisch, Z. vergl. Physiol. *30*, 145 (1943); Zool. Anz. *142*, 240 (1943).

[1] T. J. Ssinitza, Wiss. Ber. Moskauer Staatsuniv. Biol. Hft. *9*, 182 (1936).

als auch zu ihrer Einsparung durch Endoxybiose während des anaeroben Lebens besitzt.

Ich bin überzeugt, daß die für Chironomiden aufgezeigten Gesetzmäßigkeiten auch für die anderen (schwerer untersuchbaren) Tierformen an Sauerstoff armen Wassers und Schlamms (*Corethra*larven, *Tubifex*, *Pisidium* usw.) von Bedeutung sein werden, wenn auch im einzelnen krasse Mannigfaltigkeit ihrer Verwirklichung, vielleicht auch noch manche Überraschung zu erwarten ist.

Für die Gewässerkunde ist zunächst von großem Nutzen, daß wir auf die die Verbreitung regelnde Bedeutung verschiedener Ausbildung des Sauerstoffmangels in den Gewässern aufmerksam geworden sind; sodann wirft die Erkenntnis, daß ein Zusammenhang zwischen Ernährung und der Fähigkeit zum Ertragen namentlich längeren und weitgehenden Sauerstoffmangels besteht, eine sehr wichtige, neue Problemstellung für die limnologische Forschung auf.

Summary

Anaerobic processes for gaining energy, which occur in the larvæ of *Chironomus* (and also of *Eutanytarsus*) even under not strictly anaerobic conditions, but all the more under these, require an aerobic (oxybiotic) phase for the undisturbed continuance of metabolism. This is brought about in such forms as live in shallow (or relatively oxygen-rich) waters (*Chironomus thummi*, *Eutanytarsus*) through increased oxygen uptake from the medium under conditions favorable to respiration (oxygen debt, secondary oxybiosis). Species subject to a permanent oxygen deficit, such as those e.g. that live on the bottoms of eutrophic lakes (*Ch. plumosus*, *anthracinus*, and also *tentans*) show in its stead an aerobic phase that occurs already under anaerobic conditions, oxygen being obtained from peroxides formed in the body. I call this important process "endoxybiosis". It obviates an oxygen debt following upon oxygen deficit. The nourishment of the larvæ is important for the formation of the peroxides necessary for "endoxybiosis".

Bericht über die Internationale Photographische Konferenz vom 6. bis 9. April 1949 in Zürich

Vom 6. bis 9. April 1949 fand in den Räumen des Photographischen Instituts der Eidg. Techn. Hochschule in Zürich dank der Initiative von Prof. J. Eggert (ETH., Zürich) eine internationale photographische Konferenz statt, welche von Teilnehmern aus 9 Ländern besucht wurde (Amerika, Belgien, Deutschland, England, Frankreich, Italien, Österreich, Schweiz und Spanien). Voriges Jahr wurde die erste solche Konferenz seit dem Krieg abgehalten, und zwar in Lüttich, unter der Leitung von Prof. A. Hautot. Am guten Gelingen der Zürcher Konferenz hat die schweizerische Industrie durch ihre wertvolle Mithilfe wesentlichen Anteil. Aus verständlichen Gründen können hier weder alle der ungefähr 30 Referate noch die sehr angeregten Diskussionen besprochen werden. Es seien daher im folgenden nur die bedeutendsten Vorträge ganz kurz zusammengefaßt.

Eine erste Gruppe von Referaten befaßte sich mit der Gelatine, mit der Reifung und mit der Sensibilisation. H. Ammann (Fribourg, Privatdozent ETH.) erläuterte das von ihm ausgearbeitete Verfahren zur Charakterisierung von Gelatinen nach ihren photographischen Eigenschaften. Die zeitliche Variation der Trübung einer definierten Chlorsilber-Gelatine-Emulsion ergibt in Abhängigkeit von der Gelatinekonzentration und von der Reifungsdauer eine sog. «Trübungsfläche», die für jede Gelatine charakteristisch ist. Die einfachsten Trübungsflächen findet man bei inerter Gelatine, d. h. bei solcher, die für den photographischen Prozeß ungeeignet ist. Es gelang Ammann, gewisse, sehr komplizierte Trübungsflächen aufweisende Gelatinen durch geeignete Zusätze zu inertisieren, so daß sie photographisch unbrauchbar wurden. Es zeigte sich also, daß das rein äußerliche Merkmal der Trübung in direktem innerem Zusammenhang zu den photographischen Eigenschaften der Gelatine steht.

Eine sehr interessante Arbeit von W. Meidinger (Deutsches Amt für Maß und Gewicht, Weida/Thüringen) behandelte die Zusammenhänge zwischen Empfindlichkeit, Maße des latenten Bildes und Korneigenschaften von Emulsionen. Die Empfindlichkeit, charakterisiert durch den reziproken Wert der Anzahl Quanten, welche zur Entwicklung einer bestimmten Dichte — 0,1 über Schleier — pro cm^2 Schicht aufzustrahlen sind, wird als das Produkt von fünf experimentell erfaßbaren Faktoren aufgefaßt. So kann die Empfindlichkeit in einer mathematischen Formel dargestellt und daraus die Entwickelbarkeit berechnet werden, d. h. die Anzahl Silberatome, die durch das Licht an der Kornoberfläche gebildet werden müssen, um das Korn entwickelbar zu machen.

Eine Mitteilung von F.W.H. Müller (Ansco Research Laboratories, Binghamton, N. Y.) befaßte sich mit der Empfindlichkeitssteigerung photographischer Schichten durch Zugabe von komplexen Rhodaniden des einwertigen Goldes zu der Emulsion. Diese Empfindlichkeitssteigerung, zuerst vor etwa 15 Jahren von Koslowski entdeckt, ist von direktem Interesse für die Fabrikation von modernen, hochempfindlichen und dennoch feinkörnigen Emulsionen. Der Vorgang ist wohl der, daß die Rhodanide die Kornoberfläche anlösen, so daß an den tiefer gelegenen Keimstellen Gold angelagert wird, wodurch die Empfindlichkeit erhöht wird.

Prof. Ch. Boissonnas[1] (Universität Neuenburg) berichtete über Versuche, die er an aus der Schmelze gezüchteten, also gelatinefreien Bromsilberkristallen vorgenommen hatte. Wurden solche Kristalle unbelichtet entwickelt, so schlug sich das Silber in regelmäßigen, rhombischen Bezirken auf den Oberflächen nieder. An belichteter Oberfläche wurde der Niederschlag an diesen Stellen nur stärker, wenn die Oberfläche durch zartes Reiben auf Stoff etwas aufgerauht war. An polierter Oberfläche kehrte sich das Verhältnis des Silberniederschlages um, ein Phänomen, das erstmalig beobachtet wurde und vorläufig nicht erklärt werden kann.

Eine weitere Gruppe von Referaten hatte die Entstehung und die Natur des latenten Bildes zum Inhalt. J. W. Mitchell (University of Bristol) verfeinerte durch energetische Berechnungen die über die Entstehung des latenten Bildes bestehenden Theorien. So geht z. B. das im Bromsilbergitter enthaltene Bromion durch Photolyse vorübergehend in Bromatom über, während gleichzeitig das Silberion zu Silberatom reduziert wird. Nun ist Mitchell zu dem Schluß gekommen, daß, wenigstens für ein bestimmtes Belichtungsgebiet, nicht unmittelbar Silberatome entstehen, sondern ein lockeres Nebeneinander von Silberionen und Elektronen, die sog. «F-Zentren», die erst in höherer Konzentration in Agglomerate von Silberatomen übergehen, welche dann das latente Bild darstellen.

(Schluß folgt).

[1] vergl. Exper. *5*, 282 (1949).

Bücher aus dem Verlag Birkhäuser

Lehrbücher und Monographien
aus dem Gebiete der exakten Wissenschaft

	Fr.
MATHEMATIK	
Zwinggi, E.: Versicherungsmathematik	27.—
Fueter, R.: Analytische Geometrie der Ebene und des Raumes	22.50
Linder, A.: Statistische Methoden für Naturwissenschafter, Mediziner und Ingenieure	18.50
Ostrowski, A.: Vorlesungen über Differential- und Integralrechnung, Band 1, Funktionen einer Variablen	47.50
Ostrowski, A.: Vorlesungen über Differential- und Integralrechnung, Band 2 und 3, Funktionen mehrerer Variablen	*
Stiefel, A.: Lehrbuch der darstellenden Geometrie	28.50
Carathéodory: Funktionentheorie	*
PHYSIK	
Reichenbach, H.: Philosoph. Grundlagen der Quantenmechanik	23.—
Gombas, P.: Theorie- und Lösungsmethoden des Mehrteilchenproblems der Wellenmechanik	29.50
CHEMIE	
Niggli, P.: Grundlagen der Stereochemie	32.50
Brandenberger, E.: Röntgenographisch-analytische Chemie	28.50
Karrer, P., und Jucker, E.: Carotinoide	43.—
EXPERIMENTELLE BIOLOGIE	
Gäumann, E.: Pflanzliche Infektionslehre	48.50
Lehmann, F. E.: Einführung in die physiologische Embryologie	38.—
Muralt, A. von: Die Signalübermittlung im Nerven	38.50
Gäumann, E.: Die Pilze, ihre Entwicklungsgesch. und Morphologie	38.—
MINERALOGIE	
Moos, A. von, und Quervain, F. de: Technische Gesteinskunde	33.—
Burckhardt, J. J.: Die Bewegungsgruppen der Kristallographie	29.—
Niggli, P., und Niggli, E.: Gesteine und Minerallagerstätten. Band I	46.—
ASTRONOMIE	
Pahlen, E. von der: Einführung in die Dynamik v. Sternsystemen	36.—
Niethammer, Th.: Die genauen Methoden der astronomisch-geographischen Ortsbestimmung	32.—
Waldmeier, M.: Einführung in die Astrophysik	47.50

Lehr- und Handbücher der Ingenieurwissenschaften

Stüssi, F.: Vorlesungen über Baustatik	38.50
Meissner, E., und Ziegler, H.: Mechanik, Band 1, Statik	36.—
Meissner, E., und Ziegler, H.: Mechanik, Band 2, Dynamik	32.50
Jaeger, Ch.: Technische Hydraulik	48.50
Rusterholz, A.: Elektronenoptik	29.—
Kuhlmann, K.: Theoretische Elektrotechnik, Band 1	*
Kuhlmann, K.: Theoretische Elektrotechnik, Band 2	26.50
Kuhlmann, K.: Theoretische Elektrotechnik, Band 3	*

Wissenschaft und Kultur

Speiser, A.: Die mathematische Denkweise	14.50
Fierz-David, H. E.: Die Entwicklungsgeschichte der Chemie	21.50
Gamow, G.: Geburt und Tod der Sonne	24.50
Straub, H.: Die Geschichte der Bauingenieurkunst	22.50
Niggli, P.: Probleme der Naturwissenschaften	18.50

Industrie und Technik

Fierz-David, H. E., und Merian, E.: Abriß der chemischen Technologie der Textilfasern	36.50
Cohen, A.: Rationelle Metallanalyse	46.—
Stäger, H.: Allgemeine Werkstoffkunde	46.50
Schmid, E. V.: Ins Innere von Kunststoffen, Kunstharzen und Kautschuken	18.50
Moser A.: Der Dampfbetrieb der schweiz. Eisenbahnen 1847—1947	30.—
Bodea, E.: Giorgis rationales MKS-Maßsystem mit Dimensionskohärenz	24.50
Neueste Fortschritte und Verfahren in der chemischen Technologie der Textilfasern	
Diserens, L.: Die neuesten Fortschritte in der Anwendung der Farbstoffe, Band 1	68.—
Diserens, L.: Die neuesten Fortschritte in der Anwendung der Farbstoffe, Band 2	78.—
Diserens, L.: Die neuesten Fortschritte in der Anwendung der Farbstoffe, Band 3	72.—
Diserens, L.: Neue Verfahren in der Technik der chemischen Veredlung der Textilfasern, Band 1	87.50
Diserens, L.: Neue Verfahren in der Technik der chemischen Veredlung der Textilfasern, Band 2	*

Einzelwerke

Sänger, R.: Ballistische Störungstheorie	14.50
Locher-Ernst, L.: Differential- und Integralrechnung im Hinblick auf ihre Anwendung	48.—
Hurwitz, A.: Mathematische Werke	
Band 1: Funktionentheorie	44.—
Band 2: Zahlentheorie, Algebra, Geometrie	44.—
Schläfli, L.: Gesammelte mathematische Abhandlungen	*
Thommen, E.: Taschenatlas der Schweizer Flora	12.50
Kalmus, H.: Einfache Experimente an Insekten	*

* In Vorbereitung — * En préparation

Verlangen Sie unsern neuesten Verlagskatalog und Spezialprospekte der einzelnen Werke

Verlag Birkhäuser, Basel

Sämtliche Bücher können durch die Buchhandlungen bezogen werden

---

BUCHREIHE

GROSSE NATURFORSCHER

Herausgegeben von Dr. H. W. Frickhinger

Band 1

Albertus Magnus als Biologe

Werk und Ursprung
von Prof. Dr. Heinrich Balss
308 Seiten mit 37 Abb., geb. Fr. 11.20.

Band 2

Ernst Abbe, Schöpfer der Zeiss-Stiftung

von Dr. Norbrt Günther
211 Seiten mit 20 Abb., geb. Fr. 6.70.
Zur Zeit vergriffen!

Band 3

Humphry Davy, Jöns Jacob Berzelius

Zwei führende Chemiker aus der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts
von Prof. Dr. Wilhelm Prandtl
264 Seiten mit 23 Abb., geb. Fr. 10.65.

Band 4

Max von Pettenkofer

von Prof. Dr. Karl Kisskalt
135 Seiten mit 13 Abb., geb. Fr. 6.30.

Band 5

Hermann von Helmholtz

von Dr. Hermann Ebert
200 Seiten mit 5 Abb., geb. Fr. 8.40.

Band 6

Robert Wilhelm Bunsen

Lebensbild eines deutschen Naturforschers

von Prof. Dr. Georg Lockemann
262 Seiten mit 11 Abb., geb. Fr. 13.30.

Bedeutende lebende Fachgelehrte des jeweils gleichen Forschungsgebietes, welche für die einzelnen Biographien eine besondere fachliche und persönliche Berufung mitbringen, schildern an Hand der uns überkommenen Zeugnisse Leben und Werk der einzelnen Forscher.

Sämtliche Bücher können durch jede schweizerische Buchhandlung bezogen werden.

WISSENSCHAFTLICHE VERLAGSGESELLSCHAFT m.b.H. STUTTGART

Kennen Sie die naturwissenschaftliche Monatsschrift für jung und alt?

Leben und Umwelt

Aufsätze aus dem Gebiete der Biologie, Medizin, Technik, Geologie und Länderkunde, allgemeinverständlich, aber wissenschaftlich einwandfrei geschrieben, werden durch Denkaufgaben und einen Frage- und Antwortteil ergänzt. Leben und Umwelt wird von der Vereinigung Schweizerischer Naturwissenschaftslehrer im Verlag H. R. Sauerländer & Co., Aarau, herausgegeben.

AUS DEM INHALT DER LETZTEN NUMMERN:

Prof. Dr. G. O. Dyhrenfurth: Gletscherkundliche Beobachtungen im Karakorum; Dr. Suzanne Bloch: Die Einnistung des Embryos in der Gebärmutter der Säuger; Dr. B., Basel: Ein synthetisches Kontaktinsektizid; Dr. Gertrud Hess: Die Instrumente der Insekten; G. Bienz: Speicher im Berner Jura; Dr. Robert Stäger: Die Mondviole (Lunaria annua L.) in ihren Beziehungen zur Umwelt; Prof. Dr. A. Portmann: Biologisches zur ästhetischen Erziehung; Dr. Ernst Erzinger: Der Vorgang der Niederschlagsbildung; M. Thürkauf: Wie das erste Radium gewonnen wurde; Dr. W. Jauch: Kleine Beobachtungen am Schilfrohr; Dr. Leo Minder: Um das kopernikanische System; A. Hackemann: Die technischen Wunder des Spinnenfadens; Dr. Helga Gillmann: Das chemische Kreislaufgeschehen in der belebten Natur; Prof. Dr. Hans E. Suess: Wie alt ist die Welt?; Dr. Sigrid Knecht: Ist der Vogel musikalisch?; W. Zollinger: Festes Petroleum?

12 HEFTE IM JAHR FÜR NUR FR. 5.20

Verlangen Sie beim Verlag gratis ein Probeheft.

ELEMENTE DER MATHEMATIK

Revue de mathématiques élémentaires
Rivista di matematica elementare
Zeitschrift zur Pflege der Mathematik und zur Förderung des mathematisch-physikalischen Unterrichts

Organ für den Verein Schweizerischer Mathematiklehrer

Die Zeitschrift hat in ihrem Arbeitsbereich Abhandlungen aus allen Gebieten der reinen und angewandten Mathematik, der mathematischen Physik und der Geschichte der Mathematik aufgenommen, die für ein breiteres Publikum von allgemeinem Interesse sind. Sie versucht, durch Forschungsberichte und Literaturübersichten die Verbindung zwischen der Schulmathematik und der wissenschaftlichen Forschung aufrechtzuerhalten. Die zahlreichen Aufgaben, für die eine besondere Rubrik reserviert wurde, sollen dem Lehrer mannigfache Hinweise für den Unterricht geben.

Abonnementspreis für jährlich 6 Hefte im Umfang von je 24 Seiten Fr. 7.– (Ausland Fr. 10.–)
Einzelnummer Fr. 1.80

Abonnementsbestellungen durch jede Buchhandlung

VERLAG BIRKHÄUSER AG.
BASEL (SCHWEIZ)

WER HEUTE SÄET KANN MORGEN ERNTEN
MIT UNSERE GUTEN CLICHÉS SIND IHR SAATGUT ERFOLGREICHER WERBUNG
QUALITÄT
Clichés
STEINER+CO BASEL
SCHÜTZENMATTSTRASSE 31 · TELEPHON 49910/19